

داربست‌های مورد استفاده در مهندسی استخوان فک و صورت و مجسمه بواسطه سلول‌های بنیادی: مرور نظام‌مند

دکتر فهیمه سادات طباطبایی*، سعیدرضا معتمدیان**، فرشاد قلی‌پور***، کیخسرو خسرویانی**، دکتر آرش خجسته****

چکیده

سابقه و هدف: ایده مهندسی بافت، امیدهای فراوانی را برای بازسازی ضایعات استخوانی فراهم نموده است. به منظور مهندسی استخوان، سلول‌های بنیادی، تحت شرایط کنترل شده تحریک با فاکتورهای رشد، بر روی داربست‌های مناسب، کشت داده می‌شوند. داربست یا اسکافولد، ماتریس موقتی برای رشد استخوان است که محیطی اختصاصی را برای تکامل بافت، فراهم می‌کند و باعث تسهیل چسبندگی، رشد و تمایز سلول‌ها می‌شود. تاکنون، انواع مختلفی از داربست‌های سرامیکی، پلیمری و کامپوزیتی در مطالعات آزمایشگاهی و حیوانی مهندسی بافت استخوان، مورد استفاده قرار گرفته‌اند. هدف از این مطالعه، مروری است بر مطالعات ده ساله اخیر، در زمینه مهندسی استخوان فک و صورت با تمرکز بر داربست‌های مورد استفاده در این مطالعات.

مواد و روشها: در مرور نظام‌مند حاضر از کلمات کلیدی bone regeneration، Craniomaxillofacial tissue engineering، scaffold، oral surgery، stem cell+scaffold، allograft و xenograft در مدلاین استفاده شد. مطالعاتی که ترمیم ضایعات استخوانی ناحیه فک و صورت و مجسمه در مدل انسانی یا حیوانی توسط داربست به همراه سلول‌های بنیادی را مورد بررسی قرار داده بودند، در این مطالعه وارد شدند.

یافته‌ها: ۶۴ مقاله مورد بررسی کیفی قرار گرفتند.

نتیجه‌گیری: بر اساس این مطالعه مروری می‌توان نتیجه‌گیری نمود که هر چند، هنوز هم گرافت استخوان اتوژن، درمان مطلوب برای نقایص استخوانی به شمار می‌آید، اما با پیشرفت‌های صورت گرفته در زمینه طراحی داربست‌ها با استفاده از Rapid Prototyping (RP)، امیدها برای طراحی داربست‌های مناسب مهندسی بافت استخوان فک، در آینده‌ای نه چندان دور، افزایش یافته است.

کلید واژگان: مهندسی بافت، بازسازی استخوان، داربست، سلول‌های بنیادی، کرانیوماگزیلوفاسیال، جراحی دهان، آلوگرافت.

تاریخ دریافت مقاله: ۱۳۹۱/۲/۱۶ تاریخ اصلاح نهایی: ۱۳۹۱/۴/۲۶ تاریخ تأیید مقاله: ۱۳۹۱/۵/۲

Please Cite this article as follows:

Tabatabaee FS, Motamedian SR, Gholipour F, Khosraviani K, Khojasteh A. Craniomaxillofacial bone engineering by scaffolds loaded with stem cells: A Systematic review. J Dent Sch 2012;30(2):115-131

مقدمه

روشی برای جایگزینی آن باشند (۳). مهندسی بافت با عنوان دانش طراحی و ساخت بافت جدید برای بازیابی عملکرد ارگان‌های معیوب یا بافت‌های از دست رفته، از اوایل دهه نود میلادی برای جبران این محدودیت‌ها پدیدار شد. اصول مهندسی بافت، گسترش بیولوژیک سلولی و مولکولی و شکل‌گیری بافت براساس مهندسی زیستی است (۴) و درک نحوه عملکرد سلول‌ها و ساختار ماتریکس خارج سلولی و دانش کافی در مورد ساخت داربست‌ها برای ایجاد محیطی مناسب برای چسبندگی و نگهداری سلول‌ها

ضایعات کرانیوفاسیال ایجاد شده به دلایلی چون تروما، بیماری پریودونتال، نقایص مادرزادی و اکتسابی و جراحی رزکتیو استخوان باعث کاهش در حجم استخوان می‌شوند. این نقیصه به صورت طبیعی ترمیم نشده، نیاز به پیوند استخوان جایگزین دارد (۱،۲). پیوند استخوان اتوژن همچنان به عنوان استاندارد طلایی ترمیم این ضایعات استخوانی محسوب می‌شود. اما معایبی چون محدود بودن، دردناک بودن جراحی، ریسک عفونت، خونریزی، آسیب به اعصاب و از دست دادن عملکرد، محققان را بر آن داشته تا به دنبال

*استادیار گروه مواد دندان، دانشکده دندانپزشکی، دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی.

**دانشجوی دندانپزشکی، دانشکده دندانپزشکی، دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی.

***دانشجوی پزشکی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی تهران.

****نویسنده مسئول: استادیار گروه جراحی دهان و فک و صورت، دانشکده دندانپزشکی، دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی.

۵) دارای ساختاری با تخلخل‌های به هم پیوسته که اجازه رشد و تمایز سلول‌های بنیادی و ورود و خروج مواد را بدهد.

۶) دارای خواص مکانیکی مشابه استخوان طبیعی

۷) و قابلیت آنژیوژنز سریع باشد (۲۱-۲۳).

اما با وجود همه تعاریف و توقعاتی که از یک داربست ایده‌آل وجود دارد، هنوز هیچ داربستی متفقاً به عنوان داربست ایده‌آل در مهندسی بافت استخوان معرفی نشده است.

در طراحی سه بعدی داربست‌ها برای بازسازی استخوان، ملاحظات متعددی از جمله وجود تخلخل‌های زیاد و به هم مرتبط، باید در نظر گرفته شود (۲۴،۲۵). روش‌های مختلفی که برای ساخت داربست‌های صناعی استخوانی استفاده می‌شوند به صورت خلاصه در ادامه آمده‌اند. برای اطلاع از جزئیات هر روش می‌توان به مقالات مروری که در این زمینه چاپ شده‌اند، مراجعه نمود (۲۲،۲۶).

۱) Solvent-Casting and Particulate Leaching Technique: در این روش ساده، یک نمک محلول در آب با داربست قابل تجزیه و حلال آلی ترکیب می‌شود و در قالب دلخواه ریخته می‌شود. پس از جداسازی حلال، ذرات نمک شسته می‌شوند و یک داربست متخلخل به شکل دلخواه به دست می‌آید (۲۲).

۲) Emulsion Freeze Drying: این روش برای ساخت داربست (PLGA) ply (lactic-co-glycolic acid) با تخلخل بسیار بالا (>۹۰٪) به کار می‌رود (۲۷). در این روش امولسیون از حلال آلی و داربست و آب به سرعت سرد می‌شود. سپس آب و حلال به روش Freeze Drying خارج و داربستی با تخلخل بالا حاصل می‌شود (۲۲).

۳) Gas-Foaming Process: در این روش بدون استفاده از حلال و با استفاده از افزایش و کاهش فشار گازی چون دی‌اکسیدکربن (CO₂) داربست با تخلخل بالا تولید می‌شود (۲۲).

۴) Electrospinning: در این روش از میدان الکتریکی برای کنترل رسوب الیاف پلیمر بر روی یک سوپسترا استفاده می‌گردد. در نهایت می‌توان یک داربست پلیمری فیبری با اندازه دلخواه فیبرها داشت (۲۲).

۵) Thermally Induced Phase Separation: در این روش داربست در دمای بالا در حلال حل می‌شود. با کاهش دما، جداسازی دو فاز جامد-مایع یا مایع-مایع صورت

مفاهیم کلیدی آن هستند (۵). مهندسی بافت استخوانی ضرورتاً نیاز به سه جزء دارد: سلول‌های پیش‌ساز استخوانی، فاکتور رشد استخوانی و داربستی برای چسبندگی و حفظ عملکرد سلول‌ها (۵-۷). مهمترین برتری مهندسی بافت نسبت به پیوند استخوان اتوژن این است که بافت پیوندی در مهندسی بافت اگزوژن می‌تواند در خارج از بدن تولید شود و در این صورت، محدودیتی نداشته، امکان آسیب به بدن موجود زنده را نیز ندارد (۷).

سلول‌های بنیادی به دلیل خاصیت self-renewal و قدرت تمایز به سلول‌های مختلفی از جمله استئوبلاست تحت تاثیر بافت میزبان یا محیط کشت، برای درمان به واسطه سلول و مهندسی بافت، کاربرد و پتانسیل بالایی دارند (۸-۱۰). در عین حال یکی از معایب مهندسی بافت نیز نیاز آن به حجم بالای سلول است (۱۱). در مهندسی بافت استخوان برای شروع فعالیت سلول‌های بنیادی نیاز به فاکتور رشدی وجود دارد (۵). فاکتورهای رشدی می‌توانند به روش‌های مختلف در اختیار سلول قرار گیرند. انتقال ژن کدکننده فاکتور رشد به سلول میزبان (۱۲-۱۴)، اتصال فاکتور به داربست و رهایش کنترل شده آن هنگام تجزیه داربست (۱۵،۱۶)، استفاده از داربست‌هایی که در ترکیب ذاتیشان فاکتور رشدی وجود دارد (۱۷،۱۸) و کشت سلول‌ها در حضور فاکتور رشد (۱۹)، از انواع این روش‌ها هستند.

جهت انتقال سلول‌ها به محل ضایعه به داربست (Scaffold) نیاز است. داربست نقشی کلیدی در برابر سلول‌های پیش‌ساز در مهندسی بافت برعهده دارد (۲۰) داربست به صورت اولیه باید ماتریکس خارج سلولی مناسبی برای رشد و تمایز سلول‌ها ایجاد نماید. همچنین داربست باید بتواند عملکرد مناسب بافت را بازسازی کند (۱). با توجه به اینکه امروزه داربست‌های تجاری فراوانی برای کاربرد در مهندسی بافت در دسترس هستند، کلینیسین یا محقق باید قبل از انتخاب یک داربست برای کاربرد در بازسازی استخوان، آن را با "داربست ایده‌آل" مقایسه کند. به طور خلاصه می‌توان گفت که داربست ایده‌آل برای کاربرد در مهندسی بافت استخوان باید:

۱) دارای زیست سازگاری

۲) کاربرد آسان و امکان تثبیت شدن در ضایعه

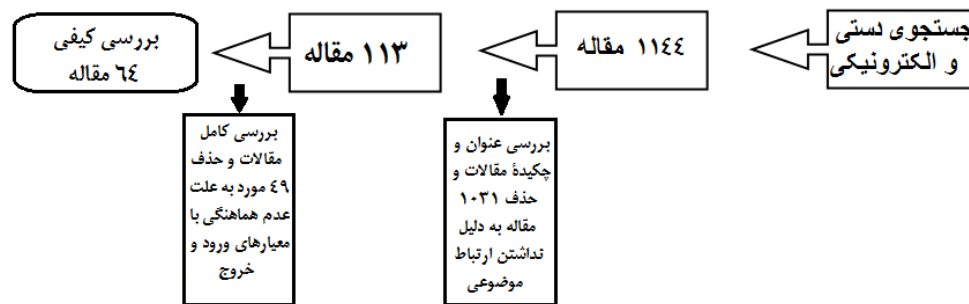
۳) دارای خواص Osteoconductive و Osteoinductive

۴) سرعت تجزیه‌پذیری مشابه سرعت ساخت استخوان جدید در بدن

stem cell+ .bone regeneration .engineering scaffold .oral surgery .scaffold allograft .xenograft و جستجوی دستی در مجلات انتخاب شده تا فوریه ۲۰۱۲ انجام شد. مطالعاتی که ترمیم ضایعات استخوانی ناحیه فک و صورت و جمجمه در مدل انسانی یا حیوانی توسط داربست به همراه سلول‌های بنیادی را بررسی نموده بودند در این مطالعه وارد شدند. مطالعاتی که ترمیم ضایعات استخوانی که به علت عفونت، بدخیمی، بیماری سیستمیک و استئونکروز را مورد بررسی قرار داده بودند، از مطالعه خارج شدند.

یافته‌ها:

از مجموع ۱۱۴۴ مقاله‌ای که با استفاده از جستجوی الکترونیکی با واژگان کلیدی در پایگاه‌های اطلاعاتی و جستجوی دستی در مجلات انتخاب شده به دست آمد، ۱۱۳ مقاله پس از بررسی عنوان و خلاصه مقاله انتخاب شدند. سپس متن کامل این مقالات بررسی شد و در مرحله بعد ۶۴ مقاله به دلیل هماهنگی با معیارهای ورود و خروج، انتخاب شده، مورد بررسی کیفی قرار گرفتند. روند انتخاب مقالات در شکل ۱ نشان داده شده است.



شکل ۱- روند انتخاب مقالات در این مطالعه مروری

هیدروژل‌ها، دسته‌ای از داربست‌ها هستند که امروزه مورد استفاده قرار می‌گیرند و می‌توانند منشأ طبیعی (کلاژن، هیالورونیک اسید، آلژینات و...) یا مصنوعی (پلی اتیلن گلیکول، پپتیدهای Self-assembling و...) داشته باشند (۳۵).

گرفته، یک داربست متخلخل حاصل می‌شود (۲۶، ۲۲). Rapid-Prototyping Technique: در این روش، کار طراحی و ساخت داربست به کمک کامپیوتر انجام می‌شود. به این ترتیب که شکل ضایعه از تصویر CT یا MRI استخراج شده، کامپیوتر دستور ساخت داربست با شکل مناسب را به bioreactor می‌دهد (۲۸، ۲۲). Bioreactor می‌تواند همزمان در حین ساخت داربست، سلول‌ها و فاکتور رشدی را نیز درون آن قرار دهد (۲۹). در نتیجه یک داربست شامل سلول و فاکتور رشد به شکل ضایعه به دست می‌آید. هرچند داربست حاصله تخلخل‌های نسبتاً کمی دارد و خواص مکانیکی آن نیز، نیاز به بهبود دارد (۳۰)، به نظر می‌رسد این روش می‌تواند پیشرفت‌های بسیاری در زمینه مهندسی بافت ایجاد کند.

این مطالعه، با هدف معرفی انواع داربست و روش‌های ساخت آنها و مرورداربست‌هایی که در بازسازی بافت استخوانی فک و صورت و جمجمه بواسطه سلول‌های بنیادی مورد استفاده قرار گرفته‌اند، انجام شد.

مواد و روشها:

در مرور نظام‌مند حاضر جستجو در بانک اطلاعاتی PubMed و با استفاده از ترکیب لغات tissue

یافته‌های حاصل از بررسی کیفی مطالعات:

داربست‌ها برای مهندسی بافت استخوان:

با توجه به نتایج بدست آمده از مطالعات، داربست‌های استفاده شده در مهندسی بافت استخوان به سه دسته کلی طبیعی، صناعی و ترکیبی تقسیم شدند (۳۴-۳۱) (جدول ۱).

جدول ۱ - انواع داربست‌های به کار رفته در مهندسی بافت استخوانی فک و صورت و ججمه

داربست‌های ترکیبی	داربست‌های صنعتی		داربست‌های طبیعی		
	صناعتی سرامیکی	صناعتی پلیمری	طبیعی غیر آلی	طبیعی آلی	
nono-hydroxyapatite/collagen/PLLA	Calcium Magnesium Phosphate Cement (CMPC)	PLGA	نقره	Collagen Sponge	
Octacalcium phosphate/collagen	β TCP	PLG	مرجان	PRP	
Nano-hydroxyapatite/polyamide 6	HA/TCP	PLLA	Silk fibroin protein	Gelatin Sponge	
nono-hydroxyapatite/polyamide66	Flurohydroxyapatite	PGA	Prem mineralized silk fibroin protein	Gelatin Hydrogel	
hydroxyapatite-coated PLGA	Ca-deficient hydroxyapatite (CDHA)	PLA	شاخ آهو	PuraMatrix	
HA/PLGA		PLA-PEG		Alginate	
β TCP/Collagen		fibronectin-coated PLA		Partially demineralized bone matrix	
DBM/PLA		PEG-DA		Bio-Oss	
nano-hydroxyapatite/polyamide		PEG-MMP		آلوگرفت	
OsteoSet		PVDC		Fibrin Sealant	
octacalcium phosphate precipitated (OCP) alginate		polycaprolactone			Gelatin foam
demineralized bone powders/PLA					Collagen gel
apatite-coated PLGA					hyaluronic acid-based hydrogel

TCP: Tricalcium phosphate – HA: hydroxyapatite – DBM: Demineralized bone matrix – PLGA: poly (lactic-co-glycolic acid) – PLA: poly (D, L-lactic acid) – PGA: poly (glycolic acid) – PLLA: poly (L-lactic acid) – PVDC: Polyvinylidene chloride – PEG: polyethylene glycol – DA: diacrylate – MMP: matrix metalloproteinases – ABB: anorganic bovine bone – Puramatrix: a self-assembling peptide nanomaterial

داربست‌های طبیعی آلی

داربست‌های آلی شامل Platelet-rich Plasma (PRP)، کلاژن، ژلاتین، فیبرین، آلژینات، Chitosan و استخوان طبیعی دمنرالیزه (آلوگرفت) می‌باشند. این مواد اغلب سوپسترای طبیعی برای چسبندگی، تمایز و تکثیر سلول‌ها فراهم می‌کنند. اما این گروه از داربست‌ها خصوصیات مکانیکی ضعیف و غیر قابل کنترلی دارند. جدول ۲ داربست‌های طبیعی آلی مورد استفاده در مطالعات مختلف را در بازه زمانی استفاده شده در این مطالعه مروری، نشان می‌دهد.

داربست‌های طبیعی

داربست‌های طبیعی عبارتند از داربست‌هایی که از مواد موجود در طبیعت، بدن انسان، گیاهان، حشرات یا حیوانات بدست می‌آیند. این داربست‌ها یا سرامیکی بوده، در داشتن ساختار هیدروکسی‌آپاتیت یا شبیه به آن با استخوان طبیعی مشترک می‌باشند یا دارای ساختار مشابه با پروتئین‌های ماتریکس آلی استخوان همانند کلاژن، استئوپوننتین و استئونکتین هستند.

جدول ۲ - داربست‌های طبیعی آلی

نویسندگان	سال انتشار	محل و شکل ضایعه	نوع سلول بنیادی	نوع داربست	فاکتور رشدی	نتیجه
Zou et al. (۳۶)	۲۰۱۲	۵ میلی متری کالواریا	BMSCs تغییریافته	Gelatin Sponge	ژن HIF-1 α	پس از هشت هفته، بررسی هیستولوژی ۲۱/۵۷±۰/۴۳٪ ساخت استخوان و ۲۷/۹/۶±۰/۲۷٪ تشکیل عروق را نشان داد.
Yamada et al. (۳۷)	۲۰۱۱	خلف ماگزینا	BMSCs	PRP		پس از سه ماه، رادیوگرافی نشان داد که ارتفاع استخوان، به میزان ۱/۶ ± ۸/۲ (میلی متر) افزایش یافته است
Yamada et al. (۳۸)	۲۰۱۱	۱۰ * ۱۰ میلی متری	BMSCs DPSCs DTSCs	PRP		پس از هشت هفته، بررسی هیستومتریک ساخت استخوان جدید را ۲/۲ ± ۵۴/۷٪ در

pDTSCs/PRP eDPSCs/PRP در ۱۶/۶±۱/۳٪ cMSCs/PRP در ۵۲/۸±۳/۵٪ پس از هشت هفته بررسی هیستومتریک ساخت ۵۵/۶۴٪ استخوان در اطراف ایمپلنت را نشان داد.				مندبیل		
پس از هشت هفته، μ CT تشکیل ۶۵٪ استخوان را نشان داد.	PRP	PuraMatrix	BMSCs	۵ میلی متری مندبیل	۲۰۱۱	Kohgo et al. (۳۹)
پس از هشت هفته، μ CT تشکیل ۶۵٪ استخوان را نشان داد.		Gelatin Hydrogel	BMSCs	۵ میلی متری جمعیه	۲۰۱۱	Ben-David et al. (۴۰)
پس از سه ماه، بررسی هیستولوژی و CT ترمیم تقریباً کامل ضایعه با استخوان اسفنجی با ۸۱/۱۱۲ MPa در گروه کلاژن و شکل گیری تقریباً هیچ استخوان جدیدی در گروه آلژینات نشان داد.	ژن BMP2	Alginate Collagen type 1	BMSCs تغییر یافته	۵*۲ میلی متری جمعیه	۲۰۱۰	Chang et al. (۴۱)
پس از سه هفته، بررسی هیستولوژی تولید متوسط ۳۴/۷ عروق در mm ² و استخوان سازی در حاشیه ضایعه را نشان داد.		Collagen Sponge	ADSCs	۳/۵ میلی متری کالواریا	۲۰۱۰	Cheung et al. (۴۲)
پس از ۱۲ هفته، μ CT ترمیم تقریباً کامل ضایعه و ساخت استخوانی با دانسیته تقریباً مشابه استخوان طبیعی را نشان داد.		partially demineralized bone matrix	UCBMSC s	۵ میلی متری کالواریا	۲۰۱۰	Liu et al. (۴۳)
پس از چهار هفته، بررسی هیستولوژی ساخت تقریباً ۴۶٪ استخوان جدید را نشان داد.		small intestine submucosa (SIS) sponge	BMSCs	۵*۵ میلی متری جمعیه	۲۰۱۰	Kim et al. (۴۴)
پس از سه ماه، بررسی کلینیکی و رادیوگرافی بازسازی استخوان را بیش از ۷۰٪ نشان داد.		Collagen Sponge	DPSCs	۱۵ میلی متری مندبیل	۲۰۰۹	d'Aquino et al. (۴۵)
پس از شش هفته، بررسی هیستولوژی، ساخت استخوان در حاشیه ضایعه و بافت فیبروز و گرانولاسیون را در مرکز ضایعه نشان داد.		Bio-Oss	ESCMSC s	۵ میلی متری کالواریا	۲۰۰۹	Arpormmaeklong et al. (۴۶)
پس از شش هفته، μ CT نشان داد که حجم استخوان ساخته شده در ترمیم با GS (102.85±51.4mm ³), CG (11.57±0.6mm ³), FS (12.02±6.2mm ³) بوده است.	ژن BMP4	Collagen gel (CG) Fibrin Sealant , Gelatin و (FS) Sponge (GS)	MDSCs تغییر یافته	۵ میلی متری کالواریا	۲۰۰۹	Usas et al. (۱۴)
بعد از شش هفته دانسیته مواد معدنی در استخوان جدید، ۱۶۰/۴±۱۳۶۵ بود.		آلوگرفت	ADSCs	۸ میلی متری کالواریا	۲۰۰۹	Bohnenblust et al. (۴۷)
پس از چهار هفته، ساخت استخوان بالغ در هیستولوژی مشاهده و فاکتورهای عروقی نیز ردیابی شدند.	BMP2	hyaluronic acid- based hydrogel	BMSCs	۸ میلی متری کالواریا	۲۰۰۷	Kim et al. (۴۸)
پس از چهار تا هفت ماه، هیستومتری نشان داد که درصد استخوان جدید ساخته شده ۴۳٪ و ۴۵٪ در resorbable algae، ۴۰٪ و ۲۳٪ در β TCP، ۱۴٪ و ۳۲٪ در زونگرفت بوده است.		ژنوگرفت، β TCP resorbable algae و	BMSCs	کف سینوس ماگزیلا و ریج ماگزیلا	۲۰۰۷	Smiler et al. (۴۹)
پس از شش هفته، بررسی کمی رادیوگرافی ترمیم تقریباً ۶۵٪ ضایعه را نشان داد.	BMP2	gelatin foam	ADSCs	۸ میلی متری کالواریا	۲۰۰۶	Dudas et al. (۱۹)
بررسی هیستولوژی ساخت استخوانی بالغ را نشان داد و پس از دو هفته، آزمون سختی Vickers مقدار ۱۷ شد.		PRP	BMSCs	۱۰ میلی متری مندبیل	۲۰۰۵	Ito et al. (۵۰)
ترمیم ۱۰۰-۹۵٪ ضایعات پس از چهار هفته	ژن BMP2	Collagen sponge	MDSCs تغییر یافته	۵ میلی متری	۲۰۰۱	Lee et al. (۵۱)

BMSCs: Bone marrow mesenchymal stem cells – ADSCs: Adipose derived mesenchymal stem cells – MDSCs: Muscle derived mesenchymal stem cells – DPSCs: Dental pulp stem cells – DTSCs: Deciduous tooth stem cells – UCBMSCs: Umbilical cord blood mesenchymal stem cells – ESCMSCs: Embryonic stem cell derived mesenchymal stem cells – PRP: Platelet rich plasma – BMP: Bone morphogenetic protein – TCP: Tricalcium phosphate – Puramatrix: a self-assembling peptide nanomaterial

داربست‌های طبیعی غیر آلی

داربست‌های طبیعی غیر آلی مورد استفاده در مطالعات مختلف را در بازه زمانی استفاده شده در این مطالعه مروری، نشان می‌دهد.

داربست‌ها طبیعی غیر آلی به دلیل شباهت ساختاری این داربست‌ها به بافت‌های معدنی بدن، خصوصیات هدایت استخوان سازی و سازگاری زیستی مناسبی دارند. جدول ۳

جدول ۳- داربست‌های طبیعی غیر آلی

نویسندگان	سال انتشار	محل و شکل ضایعه	نوع سلول بنیادی	نوع داربست	فاکتور رشدی	نتیجه
Ye et al. (۵۲)	۲۰۱۱	۴ میلی متری کالواریا	iPSCs	نقره	ژن SATB2	پس از پنج هفته، هیستومتری ساخت ۵۹/۵۸±۷/۰۰٪ استخوان جدید را نشان داد.
Duan et al. (۵۳)	۲۰۱۱	۱/۵ میلی متری پریودونتانال	iPSCs	نقره	Enamel Matrix Derivatives	پس از ۲۴ روز، بررسی هیستومتری ساخت ۵۸/۵۳±۲/۶۷٪ استخوان جدید را نشان داد.
Xiao et al. (۵۴)	۲۰۱۰	۱۲ میلی متری دیواره اربیت	BMSCs	مرجان	ژن BMP2	پس از ۲۴ هفته، هیستومتری تشکیل بریج استخوانی را به میزان ۷۴/۶۳±۷/۹۴٪ نشان داد.
Zhang et al. (۵۵)	۲۰۱۰	۳ میلی متری کالواریا	BMSCs	silk fibroin protein	ژن BMP7	پس از چهار هفته، هیستولوژی ساخت استخوان جدید را در حاشیه و جزایری در مرکز ضایعه نشان داد.
Pieri et al. (۵۶)	۲۰۱۰	۸ میلی متری عمودی کالواریا	ADSCs	ABB		پس از یک ماه، μ CT ساخت ۲۳/۱۸±۳/۹۲٪ استخوان و افزایش ارتفاع ۳/۱۱±۰/۵۶ میلی متر و هیستومتری ساخت ۴۷/۹۶±۸/۵۳٪ استخوان جدید را نشان داد.
Lucaciu et al. (۱۷)	۲۰۱۰	۳ میلی متری پریتال	BMSCs	شاخ گوزن		پس از دو و چهار ماه، بررسی هیستولوژی ساخت استخوان با کیفیتی را نشان داد.
Jiang et al. (۱۳)	۲۰۰۹	۵ میلی متری راموس	BMSCs	Preminalized silk fibroin protein	ژن BMP2	پس از هشت هفته، بررسی هیستومتری ساخت ۵۷/۷۹±۷/۹۶٪ استخوان جدید را نشان داد.
Cui et al. (۵۷)	۲۰۰۷	۲۰ میلی متری پریتال	ADSCs	مرجان		پس از ۲۴ هفته، رادیوگرافی ترمیم ۸۴/۱۹±۶/۴۵٪ حجم ضایعه را نشان داد.
Hou et al. (۵۸)	۲۰۰۷	۱۵ میلی متری جمجمه	BMSCs	مرجان	BMP2	پس از ۱۶ هفته، رادیوگرافی ساخت استخوان با اپسیته ۷۷/۴۵٪ را نشان داد.
Al-Salihi (۵۹)	۲۰۰۴	مندیل	BMSCs	مرجان		پس از سه ماه، هیستولوژی ساخت استخوان بالغ با عروق خونی فراوان را نشان داد.

BMSCs: Bone marrow mesenchymal stem cells – ADSCs: Adipose derived mesenchymal stem cells – iPSCs: induced pluripotent stem cells – BMP: Bone morphogenetic protein – ABB: anorganic bovine bone

داربست های مصنوعی

داربست های مصنوعی به ۲ دسته پلیمری و سرامیکی تقسیم می شوند.

داربست های مصنوعی پلیمری:

داربست های پلیمری مصنوعی مورد استفاده در مقالات از مشتقات پلی لاکتیک اسیدها، یا پلی گلیکولیک اسیدها تشکیل شده اند. مزیت عمده این داربست ها، امکان تولید چند

داربست مشابه و تعیین خواص مکانیکی و شیمیایی آنهاست. همچنین می توان فاکتورهای رشدی را به داربست های تجزیه پذیر در این گروه مانند poly (D, L-lactic acid) (PLGA) poly (lactic-co- (PGA) poly (glycolic acid) (PLA) acid) glycolic acid متصل کرد تا در حین تجزیه، این فاکتورها را به آرامی آزاد کنند. در جدول ۴، مطالعات انجام شده بر روی داربست های مصنوعی پلیمری با هدف ترمیم ضایعات استخوانی فک و صورت، نشان داده شده اند.

جدول ۴- داربست های صنایع پلیمری

نویسندگان	سال انتشار	محل و شکل ضایعه	نوع سلول بنیادی	نوع داربست	فاکتور رشدی	نتیجه
Songsong et al. (۶۰)	۲۰۱۱	۳*۵ میلی متری کندیل	BMSCs	PLGA	NELL-1	پس از ۲۴ هفته، μ CT نشان داد که $60/7 \pm 9/4$ استخوان معدنی در ناحیه تشکیل شده است.
Hamajima et al. (۶۱)	۲۰۱۱	۵ میلی متری کالواریا	BMSCs	PVDC		پس از شش هفته، CT ترمیم تقریباً کامل ضایعه را نشان داد.
Wang et al. (۶۲)	۲۰۱۰	۷ میلی متری کالواریا	BMSCs	PLGA	alendronate	پس از ۱۲ هفته، رادیوگرافی، رادیوپسیته در حدود ۶۵٪ را نشان داد.
Zong et al. (۶۳)	۲۰۱۰	۵ میلی متری کالواریا	BMSCs	PLGA		پس از ۲۰ هفته، هیستومتری ساخت استخوان جدید را به میزان $53/9 \pm 6/2$ ٪ نشان داد.
Terella et al. (۶۴)	۲۰۱۰	۸ میلی متری کالواریا	BMSCs	PEG-DA, PEG-MMP	BMP2	پس از هشت هفته، μ CT نشان داد که کاهش حجم ضایعه در گروه حاوی PEG-DA ۴۲٪ و در گروه حاوی PEG-MMP ۷۷٪ بوده است.
Di Bella et al. (۶۵)	۲۰۰۸	۱۵ میلی متری جمجمه	ADSCs	fibronectin-coated PLA		پس از شش هفته، بررسی هیستومتری ساخت $12/09$ ٪ استخوان جدید و رادیوگرافی $30/60$ ٪ رادیودانسیتیه نشان داد.
Liu et al. (۶۶)	۲۰۰۷	۶/۵ میلی متری جمجمه	BMSCs	PLG	BMP2	پس از ۱۲ هفته، بررسی هیستومتری ساخت $77/8$ ٪ استخوان جدید را نشان داد.
Ren et al. (۶۷)	۲۰۰۷	۱۲*۵ میلی متری مندیپیل	BMSCs	PLLA, PLGA, PLA-PEG و		پس از ۱۲ هفته، هیستومتری ساخت $81/9$ ٪ استخوان جدید در گروه حاوی PLGA و $77/7$ ٪ در گروه حاوی PLA-PEG نشان داد.
Ren et al. (۶۸)	۲۰۰۵	۱۲*۵ میلی متری مندیپیل	BMSCs	PLGA		پس از سه ماه، هیستولوژی ترمیم تقریباً کامل ضایعه استخوانی را نشان داد.
Marei et al. (۶۹)	۲۰۰۵	ساکت دندان سانترال پایین	BMSCs	PLA/PGA		پس از چهار هفته، هیستولوژی ساخت استخوان با دانسیته $74/94$ ٪ در ناحیه نشان داد.
Schantz et al. (۷۰)	۲۰۰۳	۱۵ میلی متری کالواریا	BMSCs	polycaprolactone		پس از سه ماه، هیستولوژی جزایر استخوانی جدید و عروق خونی فراوانی را نشان داد ولی ضایعه به طور کامل ترمیم نشد.

BMSCs: Bone marrow mesenchymal stem cells – ADSCs: Adipose derived mesenchymal stem cells – PRP: Platelet rich plasma – BMP: Bone morphogenetic protein – PLGA: poly (lactic-co-glycolic acid) – PLA: poly (D, L-lactic acid) – PGA: poly (glycolic acid) – PLLA: poly (L-lactic acid) – PVDC: Polyvinylidene chloride – PEG: polyethylene glycol – DA: diacrylate – MMP: matrix metalloproteinases

داربست‌های صنعتی سرامیکی:

Calcium Phosphate(CaP). Phosphate(β TCP) می باشند. مطالعات انجام شده با استفاده از این دسته از داربستها در جدول ۵ ذکر شده اند.

این داربست‌ها شامل Synthetic Hydroxyapatite(HA) Beta Tricalcium ، Nano HA، Bioglass

جدول ۵ - داربست‌های صنعتی سرامیکی

نویسندگان	سال انتشار	محل و شکل ضایعه	نوع سلول بنیادی	نوع داربست	فاکتور رشدی	نتیجه
Zou et al. (۷۱)	۲۰۱۱	۵ میلی متری کالواریا	BMSCs تغییر یافته	Calcium Magnesium Phosphate Cement (CMPC)	HIF-1 α	پس از هشت هفته، بررسی هیستومتری ساخت ۲۵/۳۱±۵/۱۶٪ استخوان جدید را نشان داد.
Zhao et al. (۷۲)	۲۰۱۰	۵ میلی متری مندیبل	BMSCs تغییر یافته	β TCP	ژن BMP2	پس از هشت هفته، هیستومتری ۳۱/۸۲±۵/۳۵٪ ساخت استخوان جدید را نشان داد.
Kim et al. (۷۲)	۲۰۰۹	۱۰*۵ میلی متری مندیبل	BMSCs و PLSCs	HA/TCP		بررسی هیستومتری پس از ۱۶ هفته ساخت ۴۰/۱۷٪ استخوان جدید در گروه BMSCs و ۳۶/۵۱٪ در گروه PLSCs در اطراف ایمپلنت را نشان داد.
Zheng et al. (۷۳)	۲۰۰۹	۱/۵*۲/۵*۲/۵ میلی متری سمفیز مندیبل	DTSCs	β TCP		پس از شش ماه، هیستومتری ساخت ۸۳/۱٪ استخوان جدید را نشان داد.
Pieri et al. (۷۴)	۲۰۰۹	۳/۵ در ۸ میلی متری ریج بی دندانی	BMSCs	Flurohydroxyapatite		پس از سه ماه، هیستومتری ساخت ۴۵/۲۸٪ استخوان جدید را نشان داد.
Guo et al. (۷۵)	۲۰۰۹	۱۰*۳۶ میلی متری مندیبل	BMSCs	Ca-deficient hydroxyapatite (CDHA)		پس از هشت هفته، هیستولوژی ترمیم کامل ضایعه را نشان داد.
Jafarian et al. (۷۶)	۲۰۰۸	۱۰ میلی متری آلونول مندیبل	BMSCs	Bio- و HA/TCP Oss		پس از شش هفته، بررسی هیستومتری ساخت ۶۵/۷۸٪ استخوان در HA/TCP، ۳۶/۸۴٪ در Bio-Oss را نشان داد.
Shayesteh et al. (۷۷)	۲۰۰۸	کف سینوس ماگزایلا	BMSCs	HA/TCP		پس از سه ماه، بررسی هیستومتری ساخت متوسط ۴۱/۳۴٪ استخوان را نشان داد.
Khojasteh et al. (۷۸)	۲۰۰۸	۵ میلی متری پریئال	BMSCs	β TCP و Bio-Oss		پس از شش هفته، بررسی هیستومتری ترمیم استخوان در گروه Bio-Oss را به اندازه ۱/۴۴ میلی متر در گروه β TCP، ۲/۵۳ میلی متر نشان داد.
Pieri et al. (۷۹)	۲۰۰۸	آگمانتاسیون سینوس ماگزایلا	BMSCs	Flurohydroxyapatite		پس از سه ماه، بررسی هیستومتری ساخت ۴۲/۵۱٪ استخوان جدید را نشان داد.
Mylonas et al. (۲۱)	۲۰۰۷	۵ میلی متری ریج بی دندانی	BMSCs	HA/TCP		پس از چهار هفته، هیستومتری نشان داد ۵۸/۲۵±۱۸/۴۳٪ استخوان جدید ساخته شده است.

BMSCs: Bone marrow mesenchymal stem cells – PLSCs: Periodontal ligament stem cells – DTSCs: Deciduous tooth stem cells – PRP: Platelet rich plasma – BMP: Bone morphogenetic protein – TCP: Tricalcium phosphate – HA: hydroxyapatite

داربست‌های ترکیبی (کامپوزیتی):

تجزیه CaP می‌تواند باعث خنثی‌سازی محصولات اسیدی حاصل از تجزیه PLGA شوند. همچنین این داربست‌ها خصوصیت مرکب بودن استخوان طبیعی را شبیه‌سازی می‌کنند. البته بعضی از داربست‌های کامپوزیتی، از ترکیب مواد طبیعی و مواد مصنوعی تشکیل شده‌اند. ترکیبات مختلفی چون hydroxyapatite/polyamide

داربست‌های ترکیبی معمولاً شامل ترکیب داربست‌های پلیمری و سرامیکی هستند که با هدف کاهش معایب هر یک از آنها، تولید می‌شوند. به عنوان مثال هنگامی که ترکیب یک پلیمر تجزیه‌پذیر مانند PLGA با یک ماده bioactive چون CaP صورت می‌گیرد، محصولات بازی حاصل از

.Octacalcium Phosphate/Alginate hydroxyapatite/PLGA
 و TCP/Collagen در مطالعات به کار
 رفته‌اند (جدول ۶).

جدول ۶ - داربست های ترکیبی

نویسندگان	سال انتشار	محل و شکل ضایعه	نوع سلول بنیادی	نوع داربست	فاکتور رشدی	نتیجه
Liu et al. (۸۰)	۲۰۱۱	۱۰ میلیمتری آلوتول	DPSCs	nono-hydroxyapatite/collagen/PLA	BMP2	پس از ۱۲ هفته، بررسی هیستومتری ساخت $۶۹/۱۶ \pm ۲/۱۸$ استخوان جدید را نشان داد.
Kawai et al. (۸۱)	۲۰۱۱	۹ میلیمتری کالواریا	BMSCs	Octacalcium phosphate/collagen		پس از هشت هفته، هیستومتری ساخت $۴۴/۱ \pm ۱/۷$ استخوان جدید را نشان داد.
Khadka et al. (۸۲)	۲۰۱۱	۸ میلیمتری کالواریا	BMSCs	Nano-hydroxyapatite/polyamide 6		پس از هشت هفته، بررسی هیستومتری ساخت بیش از ۷۰٪ استخوان جدید را نشان داد.
Qu et al. (۸۳)	۲۰۱۱	۸ میلیمتری کالواریا	BMSCs	nono-hydroxyapatite/polyamide6	ژن bFGF	پس از چهار هفته، دانسیته میکرووسلها نزدیک به ۷۰٪ و پس از ۱۲ هفته بیش از ۸۰٪ استخوان جدید ساخته شد.
Kwan et al. (۸۴)	۲۰۱۱	۴ میلیمتری پرییتال	ADSCs	hydroxyapatite-coated PLGA	ژن FGF2	پس از ۲۰ هفته، μ CT ترمیم تقریباً کامل ضایعه و ساخت استخوانی با بیش از ۱۸۰ mg/cc مواد معدنی را نشان داد.
James et al. (۸۵)	۲۰۱۱	۴ میلیمتری کالواریا	ADSCs	HA/PLGA		پس از چهار هفته، μ CT نشان داد که تقریباً ۸۰٪ استخوان سازی صورت گرفته است.
Tsumanuma et al. (۸۶)	۲۰۱۱	۵*۵ میلیمتری پریودونتال	BMSCs PLSCs APSCs	β TCP/Collagen		پس از هشت هفته، در تمامی گروه‌ها استخوان جدید تقریباً ۷۰٪ ساخته شد ولی با PLSCs میزان بیشتری سمان شکل گرفت.
Rhee et al. (۸۷)	۲۰۱۱	۸ میلیمتری کالواریا	ADSCs	DBM and/or PLA		پس از هشت هفته، بررسی رادیوایزومتری نشان داد که استخوانی شدن در گروه DBM/PLA+ADSCs $۴۲/۷۵$ ٪ و در گروه DBM+ADSCs $۵۷/۶۹$ ٪ بوده است.
Li et al. (۸۸)	۲۰۱۰	۸*۱۲ میلی متری مندیبل	BMSCs	nano-hydroxyapatite/polyamide	ژن BMP7	پس از هشت هفته، بررسی هیستومتری ساخت $۸۵/۵۴ \pm ۲/۰۷$ استخوان جدید را نشان داد.
Behnia et al. (۱۸)	۲۰۰۹	شکاف آلوتول	BMSCs	OsteoSet		پس از چهار ماه، CT $۳۴/۵$ ٪ و $۲۵/۶$ ٪ ساخت استخوان را نشان داد.
Fuji et al. (۲۴)	۲۰۰۹	۴/۲ میلیمتری کالواریا	BMSCs	octacalcium phosphate precipitated (OCP) alginate		نتایج نشان داد که OCP می تواند موجب چسبندگی بهتر سلولها به داربست شود.
Ko et al. (۸۹)	۲۰۰۸		hMSCs	demineralized bone powders/PLA		پس از ۱۲ هفته، هیستولوژی و μ CT ترمیم تقریباً کامل ضایعه و ساخت استخوان با دانسیته $۰/۳۰$ g/cm ² را نشان داد.
Wang et al. (۹۰)	۲۰۰۷	۸*۱۲ میلیمتری مندیبل	BMSCs	nano-hydroxyapatite/polyamide		پس از ۱۲ هفته، هیستولوژی ساخت بیش از ۸۰٪ استخوان جدید را نشان داد.
Cowan et al. (۹۱)	۲۰۰۵	۴ میلیمتری کالواریا	BMSCs ADSCs	apatite-coated PLGA	BMP2 و Retinoic acid	μ CT نشان داد که استخوان جدید با دانسیته ۷۰-۶۰٪ بعد از دو تا چهار هفته تشکیل شده است.

BMSCs: Bone marrow mesenchymal stem cells – ADSCs: Adipose derived mesenchymal stem cells – DPSCs: Dental pulp stem cells – APSCs: alveolar periosteal stem cells – PLSCs: Periodontal ligament stem cells – hMSCs: human mandibular mesenchymal stem cells – FGF: Fibroblast growth factor – BMP: Bone morphogenetic protein – TCP: Tricalcium phosphate – HA: hydroxyapatite – DBM: Demineralized bone matrix – PLGA: poly (lactic-co-glycolic acid) – PLA: poly (D, L-lactic acid)

بحث:

معمولاً در کالواریا و جمجمه، و بعضاً در ریج آلوئول، ماگزیلا، یا ماندیبل تشکیل شده‌اند.

از این ۱۸ مطالعه، در ۴ مطالعه، در کنار داربست از یک فاکتور رشد نیز استفاده شده است. در ۴ مطالعه، سلول‌ها با فاکتور مورد نظر ترانسفکت شده‌اند. در سایر مطالعات از هیچ فاکتور رشدی استفاده نشده است و بعضاً نوع داربست مورد استفاده، دارای فاکتورهای رشدی بوده است (مانند PRP).

بررسی بهبود ضایعات استخوانی ایجاد شده، معمولاً در فاصله زمانی ۱ تا ۳ ماه بعد و با استفاده از روش‌های مختلفی انجام شده است. روش‌های رایج‌تر عبارتند از: هیستولوژی، هیستومورفومتری و توموگرافی میکروکمپیوتری (μCT). در کنار این روش‌ها، از آنالیز دانشیئة استخوان، اسپکتروسکوپی، تست‌های بیومکانیکی، و بررسی سختی و پیکر نیز استفاده شده است. بعضی از مطالعات در مرحله آزمایشگاهی از ایمنوهیستوشیمی و بررسی بیان ژن نیز استفاده کرده‌اند.

نتایج بررسی نقایص ایجاد شده در این مطالعات نشان می‌دهد که در اکثر مطالعات، استفادهٔ توام از داربست، سلول و فاکتور رشدی یا داربست و سلول، پاسخ بهتری را نسبت به استفاده از سلول به تنهایی یا داربست به تنهایی ایجاد می‌کند. البته در دو مطالعه، تفاوت معناداری بین ترمیم ضایعه با داربست و سلول، با ترمیم بدون ماده پیوندی وجود نداشت. نتایج مطالعات انسانی، رضایت‌بخش بوده است.

در بعضی از مطالعات مقایسه‌ای بین داربست‌های طبیعی مختلف صورت گرفته و نتایج نشان داده است که کلاژن نوع ۱ نسبت به آلژینات باعث پاسخ بهتری می‌شود. همچنین، مقایسه ترمیم ضایعات استخوانی ۵ میلی‌متری کالواریای موش توسط سلول‌های بنیادی مشتق شده از عضلات (MDSCs) ترانسفکت شده با ژن BMP4، به همراه سه نوع داربست (Collagen gel (CG)، Fibrin Sealant (FS) و Gelatin Sponge (GS) نیز نشان داده است که ترمیم ضایعات در این سه نوع داربست از نظر حجم، شکل و مورفولوژی متفاوت است. ضایعات ترمیم شده با داربست GS، استخوان هایپرترفیک تولید کردند، در حالی که داربست‌های CG و FS، منجر به تولید استخوان بسیار مشابه با استخوان طبیعی کالواریوم شدند (۱۴).

اگر چه اهمیت استراتژی‌های بازسازی استخوان مبتنی بر سلول و مبتنی بر فاکتورهای رشد، مورد تاکید می باشد، در این مطالعه، بر استراتژی‌های مبتنی بر داربست تمرکز شده است.

خصوصیات دقیق داربست‌ها در مقالات مروری متعددی بررسی شده‌اند (۳۳-۳۱) که می‌توان با بررسی آنها و مقایسه با ایده‌آل‌ها، داربست مناسب را انتخاب کرد. البته باید این نکته را در نظر داشت که در حال حاضر هیچ داربستی وجود ندارد که تمام خصوصیات داربست ایده‌آل را دارا باشد. اما بنظر می‌رسد که برای اطمینان از درمان موفق دیفکت استخوانی، حداقل سه عملکرد داربست مورد نیاز است: اول، داربست باید ژئومتری آناتومیکی صحیحی داشته باشد، دوم، داربست باید تحمل بارهای مکانیکی در ناحیه را داشته باشد، بخصوص اگر بدون انکوباسیون در بیورآکتور و بطور مستقیم، در بافت قرار گرفته باشد، و در نهایت داربست باید توانایی رژنراسیون فاکتورهای رشد را افزایش دهد.

داربست‌های طبیعی

داربست‌های طبیعی آلی

مروری بر این مطالعات مشخص می‌سازد که از مجموع ۱۸ مطالعه‌ای که با استفاده از داربست‌های طبیعی انجام شده بود، ۱۱ مطالعه از سلول‌های بنیادی مغز استخوان (BMSCs) استفاده کرده بودند. سلول‌های دیگر مورد استفاده در این مطالعات، با پراکندگی کمتر، شامل سلول‌های بنیادی پالپ دندان بالغ (cDPSCs) یا دندان شیری (pDTSCs)، سلول‌های بنیادی بافت چربی (ADSCs)، سلول‌های بنیادی بند ناف (UCBMSCs)، سلول‌های بنیادی جنینی (ESC-MSCs)، یا سلول‌های بنیادی مشتق از عضلات (MDSCs) می‌باشند.

حیوانات مورد استفاده در این مطالعات، موش (mice)، rat، سگ، خوک مینیاتوری، یا خرگوش بوده‌اند که البته بیشترین مطالعات در rat انجام شده بود و سه مطالعه نیز بر روی انسان انجام گرفته بود.

اندازه ضایعات استخوانی ایجاد شده در حیوانات مورد مطالعه، معمولاً بین ۵ تا ۱۵ میلی‌متر بوده، این ضایعات

داربست‌های طبیعی غیر آلی

از مجموع ۱۰ مطالعه‌ای که با استفاده از داربست‌های طبیعی غیرآلی انجام شده بود، در ۶ مطالعه از سلول‌های بنیادی مغز استخوان (BMSCs) استفاده شده است. در سایر مطالعات از سلول‌های بنیادی بافت چربی (ADSCs) و سلول‌های بنیادی چندتوانه القاشده (iPSCs) استفاده شده است.

حیوانات مورد استفاده در این مطالعات، شامل موش، سگ، گاو و خرگوش می‌باشند. که باز هم بیشترین مطالعات بر روی موش انجام شده است. تا به حال مطالعه‌ای انسانی با استفاده از این داربست‌ها انجام نشده است. اندازه ضایعات استخوانی ایجاد شده در حیوانات مورد مطالعه، معمولاً بین ۱/۵ تا ۳۰ میلی‌متر بوده، این ضایعات معمولاً در کالواریا، و بعضاً در پرییتال، اربیت، راموس، جمجمه یا ماندیبل تشکیل شده‌اند.

در ۴ مطالعه از این ۱۰ مطالعه، از هیچ فاکتور رشدی استفاده نشده است. در ۴ مطالعه، سلول‌ها با فاکتور مورد نظر ترانسفکت شده‌اند. در ۲ مطالعه دیگر از فاکتور رشد استفاده شده است. بررسی بهبود ضایعات استخوانی ایجاد شده، معمولاً در فاصله زمانی ۱ تا ۶ ماه بعد، و با استفاده از هیستولوژی، هیستومورفومتری، و میکرو CT و بعضاً رادیوگرافی انجام شده است. در این مطالعات نیز بر اثر سینرژیک استفاده توأم از داربست، سلول و فاکتور رشدی یا داربست و سلول، تاکید شده است.

داربست‌های مصنوعی**داربست‌های مصنوعی پلیمری:**

در این ۱۱ مطالعه عمدتاً از سلول‌های بنیادی مغز استخوان (BMSCs) استفاده شده است و تنها در یک مطالعه، سلول‌های بنیادی بافت چربی (ADSCs) مورد استفاده قرار گرفته‌اند.

حیوانات مورد استفاده در این مطالعات، شامل بز، موش و خرگوش می‌باشند؛ که بیشترین مطالعات بر روی موش و خرگوش انجام شده است. تابحال مطالعه‌ای انسانی با استفاده از این داربست‌ها انجام نشده است. اندازه ضایعات استخوانی ایجاد شده در حیوانات مورد مطالعه، معمولاً بین ۵ تا ۱۵ میلی‌متر بوده، این ضایعات معمولاً در کالواریا و بعضاً در جمجمه، کندیل، ماندیبل، یا ساکت دندان کشیده

شده ایجاد شده‌اند. در ۷ مطالعه از این ۱۱ مطالعه، از هیچ فاکتور رشدی استفاده نشده است.

بررسی بهبود ضایعات استخوانی ایجاد شده، معمولاً در فاصله زمانی ۱ تا ۶ ماه بعد، و با استفاده از شیوه‌های مشابه با مطالعات قبلی انجام شده است.

در این مطالعات، اصلاحات شیمیایی داربست‌ها نیز مورد توجه قرار گرفته‌اند. بعنوان نمونه، مقایسه داربست حساس به پروتئاز-PEG (PEG matrix metalloproteinases) با داربست MMP (PEG-DA) نشان داده است که PEG-DA حتی با وجود سلول بنیادی و فاکتور رشدی هم مانع رشد استخوان درون خود می‌شود (۶۴). همچنین بررسی اثر پوشش سطحی داربست PLA توسط فیبرونکتین به همراه سلول‌های بنیادی مشتق شده از چربی (ADSCs) برای کاربرد در ترمیم ضایعات جمجمه خرگوش نشان داده که پوشش سطحی این نوع داربست می‌تواند به طور موثری باعث افزایش اثر آن در ترمیم این ضایعات بشود. همچنین نشان داده شد زمانی که سلول‌های بنیادی پیش از جایگذاری، در محیط استئوژنیک قرار می‌گیرند، به مقدار بیشتری استخوان‌سازی صورت می‌گیرد (۶۵). رهایش تدریجی فاکتورهای رشد نیز با استفاده از این داربست‌ها مورد توجه قرار گرفته است. مقایسه سه نوع داربست PLGA، PLLA و PLA-PEG نشان داده که داربست PLGA بیشترین توانایی را در چسبندگی و تکثیر و تمایز سلول‌ها بر روی خود و ترمیم ضایعه استخوانی دارد (۶۷).

از حدود سال ۲۰۰۳، استفاده از تکنیک Rapid prototyping در ساخت این دسته از داربست‌ها، با هدف دستیابی به داربست‌هایی با ژئومتری و ساختار میکروسکوپی کنترل شده مورد توجه قرار گرفته است (۷۰).

داربست‌های صنایع سرمایه‌ی:

این مطالعات بر روی حیواناتی مانند موش، خرگوش، خوک، خوک مینیاتوری، و سگ انجام شده، یک مطالعه کلینیکی بر روی انسان نیز با استفاده از این داربست‌ها گزارش شده است. در این مطالعات عمدتاً از سلول‌های بنیادی مغز استخوان (BMSCs) استفاده شده است. و تنها در یک مطالعه، سلول‌های بنیادی دندان‌های شیری مورد استفاده قرار گرفته‌اند. آنچه که در این دسته از داربست‌ها، بسیار

و نتایجی که از کاربرد مرجان‌ها بدست آمده است، بهتر از نقره بوده است.

در بین داربست‌های صناعی پلیمری، PLGA بیشترین کاربرد را داشته، نتایج خوبی از کاربرد آن حاصل شده است. همچنین به نظر می‌رسد HA/TCP موفق‌تر از سایر داربست‌های صناعی سرامیکی بوده‌اند. داربست‌های ترکیبی بیشتر از ترکیب هیدروکسی آپاتیت با داربست‌های صناعی پلیمری حاصل شده است. کاربرد داربست‌های ترکیبی در بازسازی استخوان‌های فک و صورت و جمجمه با وجود اینکه در کل به نسبت سایر داربست‌ها کمتر بوده است، در سال‌های اخیر افزایش یافته است.

در مجموع بهترین نتایج از داربست‌های مرجانی و در درجه دوم از داربست‌های ترکیبی با استخوان‌سازی بالای ۸۰٪ حاصل شده است.

برای رسیدن به نتایج مطلوب در مهندسی بافت استخوانی، فاکتورهایی وجود دارند که مطالعات باید به آنها توجه نمایند. این فاکتورها عبارتند از:

۱- مطالعات کلینیکی: تا به حال مطالعات کلینیکی محدودی روی انسان انجام گرفته‌اند و در هر مطالعه تعداد نمونه‌ها بسیار کم بوده است.

۲- مطالعات حیوانی: مطالعات اکثراً روی بازسازی ضایعات کوچک و در حیوانات کوچک صورت گرفته است. برای رسیدن به نتایجی که به انسان قابل تعمیم باشد، باید حیوانات بزرگتر با ساختارها و سیستم ایمنی مشابه انسان مورد بررسی قرار گیرند.

۳- گروه‌های شاهد: انتخاب مناسب گروه‌های شاهد می‌تواند به تفسیر بهتر نتایج کمک کند و اثر هر یک از متغیرها را به خوبی نشان دهد.

۴- زمان: اکثر مطالعات در زمان کوتاهی صورت گرفته‌اند. پیگیری نمونه در مدت زمان‌های طولانی‌تر می‌تواند نتایج را بهتر نموده، همچنین عوارض احتمالی مواد را بهتر نشان دهد.

۵- سه‌گانه مهندسی بافت: در تعداد کمتری از مطالعات صورت گرفته، هر سه جزء مهندسی بافت در کنار یکدیگر قرار گرفته‌اند. توجه به این نکته که برای شبیه‌سازی ترمیم طبیعی چه فاکتورهایی لازم است و اینکه این فاکتورها باید به صورت تدریجی در محیط آزاد شوند، ضروری است.

۶- ارزیابی نتایج: راه‌های مختلفی برای ارائه نتایج یک تحقیق وجود دارند، اما باید این نکته را در نظر داشت که

مورد توجه قرار گرفته است، میزان تخلخل آنها می‌باشد. مقایسه این داربست‌ها با Bio-Oss تاثیر بهتر آنها را نشان داده است اما در مقایسه با Bioglass تفاوتی بین استفاده از دو نوع داربست ذکر نشده است.

داربست‌های ترکیبی (کامپوزیتی)

مطالعات انجام شده با استفاده از داربست‌های کامپوزیتی به همراه سلول‌های بنیادی و فاکتورهای رشد نشان داده است که از میان تمام گروه‌ها، حتی پیوند استخوان اتوژن، استخوان‌سازی زودتر و بیشتری با استفاده از این داربست‌ها درون ضایعه صورت گرفته است.

مقایسه توانایی سه نوع سلول بنیادی از مغز استخوان (BMSCs)، لیگامان پریودونتال (PLSCs) و آلوئولار پروست (APSCs) به همراه داربست β TCP/Collagen در ترمیم ضایعه پنج میلی‌متری یک دیواره پریودونتال سگ، نشان داده که در گروهی که PLSCs به همراه داربست β TCP/Collagen برای ترمیم استفاده شده بود، سمان جدید و الیاف پریودونتال جدید و استخوان آلوئولار بیشتری بازسازی شده بود. همچنین تنها در این گروه، فیلامان‌های عصبی در PDL بازسازی شده، مشاهده شد (۸۶).

نتیجه‌گیری:

بر اساس نتایج حاصل از این مطالعات، در اکثر مطالعات، سلول‌های بنیادی مغز استخوان (BMSCs) برای بازسازی استخوان به کار رفته‌اند و این سلول‌ها همچنان به عنوان استاندارد طلایی در مهندسی بافت استخوان محسوب می‌شوند. فاکتور رشد که یکی از سه ضلع مثلث مهندسی بافت است، کمتر به کار گرفته شده، یا از فاکتورهای رشدی ذاتی داربست استفاده شده است. از میان فاکتورهای رشدی، BMPها به خصوص BMP2 بیشترین کاربرد را داشته است. همچنین PRP که به عنوان داربست هم به کار رفته است، حاوی پروتئین‌هایی است که می‌توانند محرک استخوان‌سازی بوده، به عنوان فاکتور رشد به کار روند.

در بین داربست‌های طبیعی آلی، PRP و collagen sponge بیشتر از سایر داربست‌های طبیعی آلی استفاده شده‌اند و به نظر می‌رسد collagen نتایج رضایت‌بخش‌تری داشته است. مرجان و نقره پرکاربردترین داربست‌های طبیعی آلی هستند

آلی طراحی نشده است. مطالعات اکثراً روی بازسازی ضایعات کوچک انجام شده‌اند و خصوصیات مانند آنژیوژنز و فیزیولوژی استخوان کمتر در نظر گرفته شده‌اند.

به نظر می‌رسد که چشم‌انداز آینده مهندسی بافت استخوانی، به کارگیری روش Rapid Prototyping برای ساخت داربستی ترکیبی و مختص بیمار از تصاویر CT و MRI، به همراه سلول‌های بنیادی تغییر ژنتیکی داده شده باشد.

تقدیر و تشکر:

این مقاله، حاصل بخش مروری بر مقالات پروپوزال پایان نامه دکترای عمومی سعیدرضا معتمدیان، به راهنمایی دکتر آرش خجسته و دکتر فهیمه سادات طباطبایی، مربوط به دانشکده دندانپزشکی دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی می‌باشد.

بررسی عواملی چون آنژیوژنز و واکنش‌های ایمونولوژیک که از فاکتورهای پر اهمیت در بازسازی استخوان هستند، حتماً باید صورت گیرد. همچنین ارائه نتایج استخوان‌سازی به صورت کیفی می‌تواند به مقایسه مطالعات مشابه کمک کند.

مهندسی بافت از طرفی، هرچند می‌تواند به صورت تئوریک در دندانپزشکی کاربرد داشته باشد؛ اما کاربرد کلینیکی آن با توجه به مقرون به صرفه نبودن و ملاحظات مربوط به دستکاری سلول‌ها همه‌گیر نشده است. اما از طرف دیگر چشم‌انداز های آن، دندانپزشکان و محققین را به خود جذب می‌کند.

در این مطالعه مروری بر روی داربست‌های استفاده شده در بازسازی ضایعات استخوانی فک و صورت و مجسمه، مشخص شد که هنوز تا رسیدن به درمان ایده آل، راه بسیاری باقیست. با وجود اینکه داربست به عنوان فاکتور کلیدی در موفقیت مهندسی بافت مطرح است، هنوز پس از گذشت بیش از بیست سال از مهندسی بافت، داربست ایده

References

1. Runyan CM, Taylor JA. Clinical applications of stem cells in craniofacial surgery. *Facial Plast Surg*. 2010;26:385-395.
2. Nevins M, Jovanovic SA. Localized bone reconstruction as an adjunct to dental implant placement. *Curr Opin Periodontol* 1997;4:109-118.
3. Damien CJ, Parsons JR. Bone graft and bone graft substitutes: a review of current technology and applications. *J Appl Biomater* 1991;2:187-208.
4. Alsberg E, Anderson KW, Albeiruti A, Rowley JA, Mooney DJ. Engineering growing tissues. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2002;99:12025-12030.
5. Rose FR, Oreffo RO. Bone tissue engineering: hope vs hype. *Biochem Biophys Res Commun* 2002;292:1-7.
6. Reddi AH. Morphogenesis and tissue engineering of bone and cartilage: inductive signals, stem cells, and biomimetic biomaterials. *Tissue Eng* 2000;6:351-359.
7. Torroni A. Engineered bone grafts and bone flaps for maxillofacial defects: state of the art. *J Oral Maxillofac Surg* 2009;67:1121-1127.
8. Baksh D, Song L, Tuan Rs. Adult mesenchymal stem cells: characterization, differentiation, and application in cell and gene therapy. *J Cell Mol Med* 2004;8:301-316.
9. Seong JM, Kim BC, Park JH, Kwon IK, Mantalaris A, Hwang YS. Stem cells in bone tissue engineering. *Biomed Mater* 2010;5:062001.
10. Otaki S, Ueshima S, Shiraishi K, Sugiyama K, Hamada S, Yorimoto M, et al. Mesenchymal progenitor cells in adult human dental pulp and their ability to form bone when transplanted into immunocompromised mice. *Cell Biol Int* 2007;31:1191-1197.

11. Khojasteh A, Behnia H, Dashti SG, Stevens M. Current trends in mesenchymal stem cell application in bone augmentation: a review of the literature. *J Oral Maxillofac Surg* 2012;70:972-982.
12. Zhao J, Hu J, Wang S, Sun X, Xia L, Zhang X, et al. Combination of beta-TCP and BMP-2 gene-modified bMSCs to heal critical size mandibular defects in rats. *Oral Dis* 2010;16:46-54.
13. Jiang X, Zhao J, Wang S, Sun X, Zhang X, Chen J, et al. Mandibular repair in rats with premineralized silk scaffolds and BMP-2-modified bMSCs. *Biomaterials* 2009;30:4522-4532.
14. Usas A, Ho AM, Cooper GM, Olshanski A, Peng H, Huard J. Bone regeneration mediated by BMP4-expressing muscle-derived stem cells is affected by delivery system. *Tissue Eng Part A* 2009;15:285-293.
15. Haidar ZS, Hamdy RC, Tabrizian M. Delivery of recombinant bone morphogenetic proteins for bone regeneration and repair. Part B: Delivery systems for BMPs in orthopaedic and craniofacial tissue engineering. *Biotechnol Lett* 2009;31:1825-1835.
16. Cartmell S. Controlled release scaffolds for bone tissue engineering. *J Pharm Sci* 2009;98:430-441.
17. Lucaciu O, Baciut M, Baciut G, Campian R, Soritau O, Bran S, et al. Tissue engineered bone versus alloplastic commercial biomaterials in craniofacial reconstruction. *Rom J Morphol Embryol* 2010;51(1):129-136.
18. Behnia H, Khojasteh A, Soleimani M, Tehranchi A, Khoshzaban A, Keshel SH, et al. Secondary repair of alveolar clefts using human mesenchymal stem cells. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod* 2009;108:e1-6.
19. Dudas JR, Marra KG, Cooper GM, Penascino VM, Mooney MP, Jiang S, et al. The osteogenic potential of adipose-derived stem cells for the repair of rabbit calvarial defects. *Ann Plast Surg* 2006;56:543-548.
20. Malik MA, Puleo DA, Bizios R, Doremus RH. Osteoblasts on hydroxyapatite, alumina and bone surfaces in vitro; morphology during the first 2 h of attachment. *Biomaterials* 1992;13:123-128.
21. Mylonas D, Vidal MD, De Kok IJ, Moriarity JD, Cooper LF. Investigation of a thermoplastic polymeric carrier for bone tissue engineering using allogeneic mesenchymal stem cells in granular scaffolds. *J Prosthodont* 2007;16:421-430.
22. Liu X, Ma PX. Polymeric Scaffolds for Bone Tissue Engineering. *Ann Biomed Eng* 2004;32:477-486.
23. Tanner K. Bioactive composites for bone tissue engineering. *Proc Inst Mech Eng H* 2010;224:1359-1372.
24. Fuji T, Anada T, Honda Y, Shiwaku Y, Koike H, Kamakura S, et al. Octacalcium phosphate-precipitated alginate scaffold for bone regeneration. *Tissue Eng Part A* 2009;15:3525-3535.
25. Hutmacher DW. Scaffolds in tissue engineering bone and cartilage. *Biomaterials* 2000;21:2529-2543.
26. Holzwarth JM, Ma PX. Biomimetic nanofibrous scaffolds for bone tissue engineering. *Biomaterials* 2011;32:9622-9629.
27. Whang K, Healy KE, Elenz DR, Nam EK, Tsai DC, Thomas CH, et al. Engineering bone regeneration with bioabsorbable scaffolds with novel microarchitecture. *Tissue Eng* 1999;5:35-51.
28. Li J, Zhang L, Lv S, Li S, Wang N, Zhang Z. Fabrication of individual scaffolds based on a patient-specific alveolar bone defect model. *J Biotechnol* 2011;151:87-93.
29. Oragui E, Nannaparaju M, Khan WS. The Role of Bioreactors in Tissue Engineering for Musculoskeletal Applications. *Open Orthop J* 2011;5 Suppl 2:267-270.
30. Yoshimoto H, Shin YM, Terai H, Vacanti JP. A biodegradable nanofiber scaffold by electrospinning and its potential for bone tissue engineering. *Biomaterials* 2003;24:2077-2082.

31. Bueno EM, Glowacki J. Cell-free and cell-based approaches for bone regeneration. *Nat Rev Rheumatol* 2009;5:6:85-97.
32. Cancedda R, Giannoni P, Mastrogiacomo M. A tissue engineering approach to bone repair in large animal models and in clinical practice. *Biomaterials* 2007;28:4240-4250.
33. Hutmacher DW, Schantz JT, Lam CX, Tan KC, Lim TC. State of the art and future directions of scaffold-based bone engineering from a biomaterials perspective. *J Tissue Eng Regen Med* 2007;1:245-260.
34. Zuk PA. Tissue engineering craniofacial defects with adult stem cells? Are we ready yet ? *Pediatr Res* 2008;63:478-486.
35. Galler KM, D'souza RN, Hartgerink JD, Schmalz G. Scaffolds for dental pulp tissue engineering. *Adv Dent Res* 2011;23:333-339.
36. Zou D, Zhang Z, He J, Zhang K, Ye D, Han W, et al. Blood vessel formation in the tissue-engineered bone with the constitutively active form of HIF-1alpha mediated BMSCs. *Biomaterials* 2012;33:2097-2108.
37. Yamada Y, Nakamura S, Ueda M, Ito K. Osteotome technique with injectable tissue-engineered bone and simultaneous implant placement by cell therapy. *Clin Oral Implants Res* 2011. Doi:10.1111/j.1600-0501.
38. Yamada Y, Ito K, Nakamura S, Ueda M, Nagasaka T. Promising cell-based therapy for bone regeneration using stem cells from deciduous teeth, dental pulp, and bone marrow. *Cell Transplant* 2011;20:1003-1013.
39. Kohgo T, Yamada Y, Ito K, Yajima A, Yoshimi R, Okabe K, et al. Bone regeneration with self-assembling Peptide nanofiber scaffolds in tissue engineering for osseointegration of dental implants. *Int J Periodontics Restorative Dent* 2011;31:e9-16.
40. Ben-David D, Kizhner TA, Kohler T, Müller R, Livne E, Srouji S. Cell-scaffold transplant of hydrogel seeded with rat bone marrow progenitors for bone regeneration. *J Craniomaxillofac Surg* 2011;39:364-371.
41. Chang SC, Chung HY, Tai CL, Chen PK, Lin TM, Jeng LB. Repair of large cranial defects by hBMP- 2 expressing bone marrow stromal cells: Comparison between alginate and collagen type I systems. *J Biomed Mater Res A* 2010;94:433-441.
42. Cheung WK, Working DM, Galuppo LD, Leach JK. Osteogenic comparison of expanded and uncultured adipose stromal cells. *Cytotherapy* 2010;12:554-562.
43. Liu G, Li Y, Sun J, Zhou H, Zhang W, Cui L, et al. In vitro and in vivo evaluation of osteogenesis of human umbilical cord blood-derived mesenchymal stem cells on partially demineralized bone matrix. *Tissue Eng Part A* 2010;16:971-982.
44. Kim KS, Lee JY, Kang YM, Kim ES, Kim GH, Rhee SD, et al. Small intestine submucosa sponge for in vivo support of tissue-engineered bone formation in the presence of rat bone marrow stem cells. *Biomaterials* 2010;31:1104-1113.
45. d'Aquino R, De Rosa A, Lanza V, Tirino V, Laino L, Graziano A, et al. Human mandible bone defect repair by the grafting of dental pulp stem/progenitor cells and collagen sponge biocomplexes. *Eur Cell Mater* 2009;18:75-83.
46. Arpornmaeklong P, Brown SE, Wang Z, Krebsbach PH. Phenotypic characterization, osteoblastic differentiation, and bone regeneration capacity of human embryonic stem cell-derived mesenchymal stem cells. *Stem Cells Dev* 2009;18:955-968.
47. Bohnenblust ME, Steigelman MB, Wang Q, Walker JA, Wang HT. An experimental design to study adipocyte stem cells for reconstruction of calvarial defects. *J Craniofac Surg* 2009;20:340-346.

48. Kim J, Kim IS, Cho TH, Lee KB, Hwang SJ, Tae G, et al. Bone regeneration using hyaluronic acid-based hydrogel with bone morphogenetic protein-2 and human mesenchymal stem cells. *Biomaterials* 2007;28:1830-1837.
49. Smiler D, Soltan M, Lee JW. A histomorphogenic analysis of bone grafts augmented with adult stem cells. *Implant Dent* 2007;16:42-53.
50. Ito K, Yamada Y, Nagasaka T, Baba S, Ueda M. Osteogenic potential of injectable tissue-engineered bone: A comparison among autogenous bone, bone substitute (Bio-Oss), platelet-rich plasma, and tissue-engineered bone with respect to their mechanical properties and histological findings. *J Biomed Mater Res A* 2005;73:63-72.
51. Lee JY, Musgrave D, Pelinkovic D, Fukushima K, Cummins J, Usas A, et al. Effect of bone morphogenetic protein-2-expressing muscle-derived cells on healing of critical-sized bone defects in mice. *J Bone Joint Surg Am* 2001;83:1032-1039.
52. Ye JH, Xu YJ, Gao J, Yan SG, Zhao J, Tu Q, et al. Critical-size calvarial bone defects healing in a mouse model with silk scaffolds and SATB2-modified iPSCs. *Biomaterials* 2011;32:5065-5076.
53. Duan X, Tu Q, Zhang J, Ye J, Sommer C, Mostoslavsky G, et al. Application of induced pluripotent stem (iPS) cells in periodontal tissue regeneration. *J Cell Physiol* 2011;226:150-157.
54. Xiao C, Zhou H, Ge S, Tang T, Hou H, Luo M, et al. Repair of orbital wall defects using biocoral scaffolds combined with bone marrow stem cells enhanced by human bone morphogenetic protein-2 in a canine model. *Int J Mol Med* 2010;26:517-525.
55. Zhang Y, Fan W, Ma Z, Wu C, Fang W, Liu G, et al. The effects of pore architecture in silk fibroin scaffolds on the growth and differentiation of mesenchymal stem cells expressing BMP7. *Acta biomaterialia* 2010;6:3021-3028.
56. Pieri F, Lucarelli E, Corinaldesi G, Aldini NN, Fini M, Parrilli A, et al. Dose-dependent effect of adipose-derived adult stem cells on vertical bone regeneration in rabbit calvarium. *Biomaterials* 2010;31:3527-3535.
57. Cui L, Liu B, Liu G, Zhang W, Cen L, Sun J, et al. Repair of cranial bone defects with adipose derived stem cells and coral scaffold in a canine model. *Biomaterials* 2007;28:5477-5486.
58. Hou R, Chen F, Yang Y, Cheng X, Gao Z, Yang HO, et al. Comparative study between coral-mesenchymal stem cells- rhBMP- 2 composite and auto- bone- graft in rabbit critical-sized cranial defect model. *J Biomed Mater Res A* 2007;80:85-93.
59. Al-Salihi KA. Tissue-engineered bone via seeding bone marrow stem cell derived osteoblasts into coral: a rat model. *Med J Malaysia*. 2004;59 Suppl B:200-1.
60. Zhu S, Zhang B, Man C, Ma Y, Hu J. NEL-like molecule-1-modified bone marrow mesenchymal stem cells/poly lactic-co-glycolic acid composite improves repair of large osteochondral defects in mandibular condyle. *Osteoarthritis Cartilage* 2011;19(6):743-50.
61. Hamajima S, Hayashi T, Sato Y, Sasaki K, Kawai T. Osteoanagenesis after transplantation of bone marrow-derived mesenchymal stem cells using polyvinylidene chloride film as a scaffold. *Dent Mater J* 2011;30:707-716.
62. Wang CZ, Chen SM, Chen CH, Wang CK, Wang GJ, Chang JK, et al. The effect of the local delivery of alendronate on human adipose-derived stem cell-based bone regeneration. *Biomaterials* 2010;31:8674-8683.
63. Zong C, Xue D, Yuan W, Wang W, Shen D, Tong X, et al. Reconstruction of rat calvarial defects with human mesenchymal stem cells and osteoblast-like cells in poly-lactic-co-glycolic acid scaffolds. *Eur Cell Mater* 2010;20:109-120.

64. Terella A, Mariner P, Brown N, Anseth K, Streubel SO. Repair of a calvarial defect with biofactor and stem cell-embedded polyethylene glycol scaffold. *Arch Facial Plast Surg* 2010;12:166-171.
65. Di Bella C, Farlie P, Penington AJ. Bone regeneration in a rabbit critical-sized skull defect using autologous adipose-derived cells. *Tissue Eng Part A* 2008;14:483-490.
66. Liu HW, Chen CH, Tsai CL, Lin IH, Hsiue GH. Heterobifunctional poly (ethylene glycol)-tethered bone morphogenetic protein-2-stimulated bone marrow mesenchymal stromal cell differentiation and osteogenesis. *Tissue Eng* 2007;13:1113-1124.
67. Ren J, Ren T, Zhao P, Huang Y, Pan K. Repair of mandibular defects using MSCs-seeded biodegradable polyester porous scaffolds. *J Biomater Sci Polym Ed* 2007;18:505-517.
68. Ren T, Ren J, Jia X, Pan K. The bone formation in vitro and mandibular defect repair using PLGA porous scaffolds. *J Biomed Mater Res A* 2005;74:562-569.
69. Marei MK, Nouh SR, Saad MM, Ismail NS. Preservation and regeneration of alveolar bone by tissue-engineered implants. *Tissue Eng* 2005;11:751-767.
70. Schantz JT, Hutmacher DW, Lam CX, Brinkmann M, Wong KM, Lim TC, et al. Repair of calvarial defects with customised tissue-engineered bone grafts II. Evaluation of cellular efficiency and efficacy in vivo. *Tissue Eng*. 2003;9(Supple 1):S127-139.
71. Zou D, Zhang Z, He J, Zhu S, Wang S, Zhang W, et al. Repairing critical-sized calvarial defects with BMSCs modified by a constitutively active form of hypoxia-inducible factor-1alpha and a phosphate cement scaffold. *Biomaterials* 2011;32:9707-9718.
72. Kim SH, Kim KH, Seo BM, Koo KT, Kim TI, Seol YJ, et al. Alveolar bone regeneration by transplantation of periodontal ligament stem cells and bone marrow stem cells in a canine peri-implant defect model: a pilot study. *J Periodontol* 2009;80:1815-1823.
73. Zheng Y, Liu Y, Zhang CM, Zhang HY, Li WH, Shi S, et al. Stem cells from deciduous tooth repair mandibular defect in swine. *J Dent Res* 2009;88:249-254.
74. Pieri F, Lucarelli E, Corinaldesi G, Fini M, Aldini NN, Giardino R, et al. Effect of mesenchymal stem cells and platelet-rich plasma on the healing of standardized bone defects in the alveolar ridge: a comparative histomorphometric study in minipigs. *J Oral Maxillofac Surg* 2009;67:265-272.
75. Guo H, Su J, Wei J, Kong H, Liu C. Biocompatibility and osteogenicity of degradable Ca-deficient hydroxyapatite scaffolds from calcium phosphate cement for bone tissue engineering. *Acta Biomater* 2009;5:268-278.
76. Jafarian M, Eslaminejad MB, Khojasteh A, Mashhadi Abbas F, Dehghan MM, Hassanizadeh R, et al. Marrow-derived mesenchymal stem cells-directed bone regeneration in the dog mandible: a comparison between biphasic calcium phosphate and natural bone mineral. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod* 2008;105:e14-24.
77. Shayesteh YS, Khojasteh A, Soleimani M, Alikhasi M, Khoshzaban A, Ahmadbeigi N. Sinus augmentation using human mesenchymal stem cells loaded into a beta-tricalcium phosphate/hydroxyapatite scaffold. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod* 2008;106:203-209.
78. Khojasteh A, Eslaminejad MB, Nazarian H. Mesenchymal stem cells enhance bone regeneration in rat calvarial critical size defects more than platelet-rich plasma. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod* 2008;106:356-362.

79. Pieri F, Lucarelli E, Corinaldesi G, Iezzi G, Piattelli A, Giardino R, et al. Mesenchymal stem cells and platelet-rich plasma enhance bone formation in sinus grafting: a histomorphometric study in minipigs. *J Clin Periodontol* 2008;35:539-546.
80. Liu HC, E LL, Wang DS, Su F, Wu X, Shi ZP, et al. Reconstruction of alveolar bone defects using bone morphogenetic protein 2 mediated rabbit dental pulp stem cells seeded on nano-hydroxyapatite/collagen/poly(L-lactide). *Tissue Eng Part A* 2011;17:2417-2433.
81. Kawai T, Anada T, Masuda T, Honda Y, Sakai Y, Kato Y, et al. The effect of synthetic octacalcium phosphate in a collagen scaffold on the osteogenicity of mesenchymal stem cells. *Eur Cell Mater* 2011;22:124-136.
82. Khadka A, Li J, Li Y, Gao Y, Zuo Y, Ma Y. Evaluation of hybrid porous biomimetic nano-hydroxyapatite/polyamide 6 and bone marrow-derived stem cell construct in repair of calvarial critical size defect. *J Craniofac Surg* 2011;22:1852-1858.
83. Qu D, Li J, Li Y, Gao Y, Zuo Y, Hsu Y, et al. Angiogenesis and osteogenesis enhanced by bFGF ex vivo gene therapy for bone tissue engineering in reconstruction of calvarial defects. *J Biomed Mater Res A* 2011;96:543-551.
84. Kwan MD, Sellmyer MA, Quarto N, Ho AM, Wandless TJ, Longaker MT. Chemical control of FGF-2 release for promoting calvarial healing with adipose stem cells. *J Biol Chem* 2011;286:11307-11313.
85. James AW, Levi B, Nelson ER, Peng M, Commons GW, Lee M, et al. Deleterious effects of freezing on osteogenic differentiation of human adipose-derived stromal cells in vitro and in vivo. *Stem Cells Dev* 2010;20:427-439.
86. Tsumanuma Y, Iwata T, Washio K, Yoshida T, Yamada A, Takagi R, et al. Comparison of different tissue-derived stem cell sheets for periodontal regeneration in a canine 1-wall defect model. *Biomaterials* 2011;32:5819-5825.
87. Rhee SC, Ji YH, Gharibjanian NA, Dhong ES, Park SH, Yoon ES. In vivo evaluation of mixtures of uncultured freshly isolated adipose-derived stem cells and demineralized bone matrix for bone regeneration in a rat critically sized calvarial defect model. *Stem Cells Dev* 2010;20:233-242.
88. Li J, Li Y, Ma S, Gao Y, Zuo Y, Hu J. Enhancement of bone formation by BMP7 transduced MSCs on biomimetic nano-hydroxyapatite/polyamide composite scaffolds in repair of mandibular defects. *J Biomed Mater Res A* 2010;95:973-981.
89. Ko EK, Jeong SI, Rim NG, Lee YM, Shin H, Lee BK. In vitro osteogenic differentiation of human mesenchymal stem cells and in vivo bone formation in composite nanofiber meshes. *Tissue Eng Part A* 2008;14:2105-2119.
90. Wang H, Li Y, Zuo Y, Li J, Ma S, Cheng L. Biocompatibility and osteogenesis of biomimetic nano-hydroxyapatite/polyamide composite scaffolds for bone tissue engineering. *Biomaterials* 2007;28:3338-3348.
91. Cowan CM, Aalami OO, Shi YY, Chou YF, Mari C, Thomas R, et al. Bone morphogenetic protein 2 and retinoic acid accelerate in vivo bone formation, osteoclast recruitment, and bone turnover. *Tissue Eng* 2005;11:645-658.