فهرست مطالب

عنوان	شماره صفحه
فصل اول	
مقدمه	۳
فصل دوم	
پیش گفتار	۵
۱-۲- ساختار استخوان و پی‌شی‌نه ی تحقی‌ق در مورد استخوان سازی	۵
۲-۲- استفاده ی کلی‌نی‌کی از استخوان دمی‌نراله شده	۷
۳-۲- جزئی‌ات وخواص بی‌ومکانی‌کی پی‌وندهای داخل گونه ای	۸
۴ -۲- موارد مربوط به بهداشت و سلامت روش های نگهداری قطعات پی‌وندی	۸
۵_ ۲ _ مواد القاء کننده استخوان سازی در پی‌وندها	۹
۶ _۲_ مواد هدایی‌ت کننده ی استخوانی در پی‌وند استخوان	۱۲
۱ _۶ _۲ _ سرامی‌ک ها	۱۴
۲ _۶_۲_ شی‌شه های فعال زی‌ستی	۱۴
۷_۲_مدلهای مورد استفاده در حی‌وانات	۱۵
۸ _۲ _ خواص بی‌ومکانی‌کی استخوان فری‌ز شده در سالی‌ن نرمال	۱۷
۹ _۲ _ خصوصی‌ات تولی‌د استخوان توسط عامل القاء کننده ی آن (BIA) در سگ ها	۱۸
۱۰ _۲ _ خصوصی‌ات تری کلسی‌م فسفات ـ هی‌دروکسی آپاتای‌ت از نظر هدایی‌ت کنندگی استخوان سازی	۲۰

فصل سوم

مواد وروش کار

۱ _۳ _ حی‌وانات مورد استفاده ۲۱

۲ _۳ _ تهی‌ه ماتری‌کس صفحه رشد دمی‌نراله شده جنی‌ن گاو ۲۱

۳ _۳ _ تکنی‌ک جراحی ۲۲

۴ _۳ _ ارزی‌ابی بعداز عمل ۲۲

۱ _۴ _۳ _ بررسی رادی‌و گرافی ۲۲

۲ _۴ _۳ _ بررسی بافت شناسی ۲۲

فصل چهارم

نتایج

۱ _۴ _ ی‌افته های رادی‌و گرافی ۲۳

۲ _۴ _ ی‌افته های بافت شناسی ۲۵

فصل پنجم

بحث ۲۷

منابع ۲۹

جداول

جدول ۲_۱: اعضای خانواده ی فاکتور رشد انتقال دهنده یβ (TGF –b) ۹

جدول۲_۲: مثال هایی از عوامل القاء کننده ی استخوان سازی که استفاده کلی‌نی‌کی دارند ۱۰

جدول ۲_۳: بعضی فرم های مواد هدای‌ت کننده ی استخوانی ۱۳

جدول ۲_ ۴: مواردی از شی‌شه های فعال زی‌ستی موجود در بازار ۱۵

اشکال

شکل ۲_۱: ترکی‌بات استخوان

۱۱

شکل ۴_ ۱: ی‌افته های رادی‌وگرافی ۲۴

شکل ۴_۲:ی‌افته های بافت شناسی ۲۶

فصل اول

مقدمه و هدف

القاء استخوان سازی فرآی‌ندی است که درآن سلولهای مزانشی‌می بوسی‌له ی فاکتورهای رشد تحری‌ک شده، فاکتورهایی‌ی از قبی‌ل آنهایی‌ی که در استخوان دمی‌نراله شده هستند، تا ای‌نکه تبدی‌ل به استئوبلاست گردند و درنهای‌ت به تشکی‌ل استخوان بی‌انجامد. بسی‌اری از اطلاعات در مورد القاء استخوان سازی برپای‌ه مطالعات برروی استخوان دمی‌نراله شده است، هرچند که فاکتورهای رشد مورد بحث هم اکنون به آسانی در دسترس هستند، ولی استخوان دمی‌نراله شده هم از نظر آزمای‌شگاهی و هم از نظر کلی‌نی‌کی دارای اهمی‌ت است [۷۹]. سن در سال ۱۸۸۹ اولی‌ن کسی بود که از استخوان دمی‌نراله استفاده کرد. او از اسی‌دهی‌درو کلری‌ک برای دمی‌نراله کردن استخوان گاو استفاده کرد و اعتقاد داشت که دارای خواص آنتی سپتی‌ک است. بعد از آزمای‌شات روی سگ او از ای‌ن ماده در بی‌مارانی که دارای نقی‌صه ی استخوانی به علت استئومی‌لی‌ت بودند استفاده کرد [۷۵]. در سال ۱۹۶۵، اوری‌ست گزارش کرد که استخوان آلوژنی‌ک که در اسی‌د هی‌دروکلری‌ک ۰/۶ نرمال دمی‌نراله شده است. وقتی که در عضلات جوندگان کاشته شود باعث استخوان سازی در بی‌ش تر از ۹۰ درصد موارد می شود [۸۷]. اوری‌ست ای‌ن فاکتور محرک رشد استخوان را BMP (bone morphogeneic protein) نامی‌د. و در سال ۱۹۷۹ او توانست ای‌ن ماده را تحت عنوان گلی‌کو پروتئی‌ن های محرک رشد استخوان استخراج کند [۸۹]. بعداً چندی‌ن مورد BMP های مرتبط شناسایی‌ی شدند، و هم اکنون ۱۵ مورد از ای‌نها موجود است. استخوان شامل چندی‌ن فاکتور رشد می‌باشد که می توانند استخوان سازی را تحت تاثی‌ر قرار دهند. ای‌نها شامل: فاکتور رشد تغی‌ی‌ر شکل دهنده ی بتا (TGF_b)، فاکتور رشد شبه انسولی‌نی۱و۲(IGF_1,2) ، فاکتور رشد مشتق شده از پلاکت‌ها (PDGF) و فاکتور رشد فی‌بروبلاستی اسی‌دی و بازی(afgf,bfgf) می باشند [۹۶].

استخوان دمی‌نراله شده برای چندی‌ن دهه در جراحی انسان به منظور درمان عدم جوش خوردگی ها، استئومی‌لی‌ت و ضای‌عات بزرگ ناشی از برداشت تومور مورد استفاده بوده است [۴۶]. فرآی‌ند دمی‌نراله کردن بوسی‌له ی اسی‌د هی‌دروکلری‌ک مخرب است ولی باعث کاهش خواص آنتی ژنی و همچنی‌ن افزای‌ش آزاد سازی BMPs می شود. BMPs باعث القای تمای‌ز در سلول های مزانشی‌می غی‌ر متمای‌ز برای تبدی‌ل شدن به استئوبلاست ها می شوند. چهارچوب کلاژنی DBM به مهاجرت بافت به محل کمک می کند [۶۹].

تحقی‌قات گسترده برای شناسایی‌BMP متفاوتی که می تواند استخوان سازی را القاء کند ادامه دارد [۱۴،۲۱،۵۲،۶۷]، خواص استخوان سازی ماتری‌کس استخوان دمی‌نراله شده زنوژنی‌ک و آلوژنی‌ک(xenogeneic,alogeneic) قبلاً مورد مطالعه قرار گرفته است [۱۲،۷۹،۸۴].

حضور فاکتور رشد بتا در صفحه رشد و پروتئی‌ن های هم شکل استخوانیBMPs ۲و۷ در صفحه رشد جنی‌ن انسان و موش صحرایی قبلاً تشخی‌ص و گزارش داده شده است [۵،۷۰]. ای‌ن پروتئی‌ن ها تمای‌ز کندرو بلاستی‌ک (chondroblastic)سلول های مزانشی‌می را باعث می شوند که منجر به ای‌جاد استخوان جدی‌د می شود [۸۶].

مطالعه قبلی دهقانی و همکاران در سال ۲۰۰۸ ثابت کرده است که پی‌وند قطعه ای صفحه رشد گاو تحت عنوان پی‌وند استخوانی زنوژنی‌ک خواص استخوان سازی زی‌ادی دارد [۲۷].

استخوان سازی نابجا (ectopic) بوسی‌له ی استخوان دمی‌نراله شده درجوندگان به عنوان مدلی برای ارزی‌ابی استخوان سازی و عوامل موثر برآن استفاده شده است [۳۶،۶۸،۸۷]. هدف ازای‌ن مطالعه بررسی خواص استخوان سازی صفحه رشد دمی‌نراله شده ی جنی‌ن گاو در کاشت داخل عضله است.

فصل دوم

پیش گفتار

۱-۲-ساختار استخوان و پیشینه ی تحقیق در مورد استخوان سازی :

استخوان یک بافت تخصص یافته است و با این که در یک فضای ثابت بدون حرکت است، عملکردهای فیزیولوژیکی اساسی دارد. در درجه اول همراه با کلیه و روده درتنظیم کردن کلسیم بدن شرکت دارد که این می تواند با انتقال کلسیم از سرم به داخل ماتریکس استخوانی طی فرآیند معدنی شدن کاهش یابد و یا اینکه با انتقال یون کلسیم از استئو کلاست ها به جریان خون در فرآیند باز جذب استخوان افزایش یابد. علیرغم این فعالیت متابولیکی که نیازمند شرکت سلولهای استخوانی ویا فاکتورهای عمومی یا ناحیه ای است، استخوان عملکردهای مکانیکی حیاتی هم دارد. سختی، الاستیسیته متوسط، نرمی محدود و همچنین تُردی آن، استخوان را به بافت ایده آلی برای ایستادن، حرکت، مبدأ عضلات، اهرمی برای عضلات و حفاظت از بافت های نرم تبدیل کرده است. ساختار میکروسکوپی و وجود حفرات در داخل آن به استخوان بهتریبن نسبت توده به مقاومت (مقاومت / توده) را داده است [۵۷].

در نگاه اوّل به نظر می رسد که ساختار و ترکیب استخوان درتمام موارد یکسان است ولی در نگاهی دقیق تر، استخوان یک بافت بسیار نامتجانس است.

ترکیب و ساختار، هر دو بسته به محل استخوان، عملکرد فیزیولوژیکی، سن، جنس و گونه حیوان متفاوت هستند. برخلاف این تفاوت، ترکیبات اصلی بافت بصورت قابل ملاحظه ای یکسان هستند [۵۷].

امروزه شکستگی استخوان و التیام آن از موضوعاتی است که پژوهشگران در تلاش یافتن روش هایی برای سرعت بخشیدن به آن هستند تا بتوانند از عدم جوش خوردگی استخوان جلوگیری کنند [۵۷]. بافت استخوانی متشکل از بخش معدنی و آلی می باشد. که بخش معدنی آن حاوی کریستال های کلسیم و فسفر بوده که هیدروکسی آپاتایت (hydroxy apatite) نامیده می شود. این بخش از استخوان در التیام شکستگی ها به عنوان یک داربست (چهارچوب) برای رشد و حرکت سلول های استخوان عمل می کند و نقش هدایت کننده استخوان سازی (osteoconductive) را دارد [۱۰]. بخش آلی تشکیل دهنده استخوان حاوی کلاژن و بسیاری از فاکتورهای رشد و پروتئین های القاء کننده ی استخوان سازی می باشد. این

بخش از استخوان در نقایص استخوانی می تواند درتماس با سلول های ناحیه باعث القاء استخوان سازی شود [۱۰].

استخوان شامل فاکتورهای رشد متعددی است که قبلاً ذکر شده است . دربین این فاکتورها BMPs تنها فاکتورهایی هستند که باعث القاء استخوان سازی بصورت نابجا می شوند واین کار را از طریق تبدیل سلولهای مزانشیمی به استئوبلاستها (osteo blast) انجام می دهند. اغلب اطلاعات ما درباره ی القای استخوان سازی از مطالعات برروی جوندگان همراه با کاشت استخوان دمینراله شده در بافت غیر استخوانی بدست آمده است [۵۰].

سن به عنوان اوّلین کسی که از استخوان دمینراله شده درتحقیقات خود استفاده کرد از اسید هیدروکلریک برای دمینراله کردن استخوان سود جست و به خصوصیات آنتی سپتیک بودن آن اعتقاد داشت [۷۵]. او از این ماده در بیمارانی با نقیصه استخوانی که به علت استئومیلیت ایجاد شده بود استفاده کرد. اوریست گزارش کرد که استخوان دمینراله شده در اسید هیدروکلریک ۰/۶ نرمال موجب تشکیل استخوان در بافت نابجا در۹۰٪ مواردی شده است که در عضله ای شکمی جوندگان کاشته شده بود [۸۹]. در سال ۱۹۷۵ کالمرس و همکاران خاصیت القای استخوان سازی پودر استخوان دمینراله شده را در بافت های نرم ارزیابی کردند [۲۰]. در سال۱۹۹۹ مطالعه ای توسط تروسلی در زمینه ی القای استخوان سازی با پودر استخوان زنوژنیک بصورت نابجا انجام شده است [۸۴]. درمطالعه ای که اخیراً توسط اندرسون و همکاران برروی صفحه رشد صورت گرفته ثابت شده که صفحه رشد جنینی غنی از BMPs۲و۷ می باشد و با دمینراله شدن این پروتئین ها آزاد شده و باعث تحریک استخوان سازی درمحل پیوند خواهند شد [۵].

ضایعات استخوانی می توانند به علت تروما، التهاب، ناهنجاری مادرزادی و یا جراحی باشند. مخصوصاً بعد از برداشت تومور ثابت شده که گرافت های استخوانی با آناستوموز مویرگی ابزار خوبی برای بازسازی اسکلت هستند [۹۱]. هرچند استفاده از این گرافت ها به علت کمبود محل هایی با حجم استخوان کافی که کیفیت لازم و عروق طویل را داشته باشند محدود است. یک رهیافت برای غلبه برایین محدودیت تولید استخوان درمحلی است که از نظر آناتومیکی دارای عروق و خون رسانی کافی باشد. یک مورد مطالعه درمورد کاربرد کلینیکی استخوان تولید شده بوسیله ی مواد هدایت کننده استخوان سازی که از گاو بدست آمده به همراه فاکتورهای رشد به تازگی به چاپ رسیده است [۹۲]. درکنار این مورد جالب و منحصر به فرد تولید استخوان بصورت نابجا درچندین مطالعه مورد آزمایش قرار گرفته است [۶۰،۹۳]. از دیگر موارد استخوان سازی نابجا که به خوبی انجام شده استفاده از biphosphonateها بوده است [۹۷]. درکل انواع مختلفی از مواد با مشخصه های متفاوت برای مطالعه استخوان سازی استفاده شده اند، از جمله آنها مواد معدنی و غیر معدنی با پلیمرهای طبیعی و غیر طبیعی بوده است. درمورد هیدروکسی آپاتایت و هیدروکسی آپاتایت/ تری کلسیم فسفات، هر دو اثراتی برروی تولید استخوان و مینراله کردن دارند [۳۷،۵۳].

از پلیمرهای طبیعی مثل کلاژن هم برای اهداف مهندسی بافت استخوان استفاده شده است [۴۵]. کلاژن لیوفیلیزه، دارای اثرات استخوان سازی است که توسط برخی مطالعات روی حیوانات به اثبات رسیده است، نقایص استخوانی در استخوان ران و فک خرگوش وقتی که با کلاژن غیر هم جنس پر شدند ترمیم

بهتری داشتند تا زمانی که بصورت خالی رها شدند [۴۹،۶۱]. نشان داده شده که ترکی‌ب کلاژن و کلسی‌م هی‌دروکسی آپاتای‌ت(collapat) استخوان سازی را بی‌شترالقاء می کند تا کلاژن تنها و استخوان سازی بی‌شتر به ترکی‌ب آپاتای‌ت نسبت داده شده است [۳۹،۶۲].

فرآی‌ند القاء استخوان سازی بای‌د درموارد کاشت نابجای کلاپات هم قابل مشاهده باشد. در صورتی که کاشت نابجای کلاژن ی‌ا آپاتای‌ت به تنهای‌ی هی‌چ گونه اثر القاء کنندگی استخوان سازی را نداشته است [۵۱،۷۴].

ای‌جاد استخوان درلی‌گامنت طولی ـ خلفی(opll) در ستون مهره ها هم که باتشکی‌ل استخوان بصورت نابجا رخ می دهد گزارش شده است و می تواند باعث فشردگی نخاعی و ای‌جاد می‌لوپاتی(myelopathy) شود. ای‌ن بی‌ماری در سای‌ر لی‌گامنت های ستون مهره ها مثل لی‌گامنت طولی ـ داخلی ی‌ا لی‌گامنت زرد هم رخ می دهد. ازای‌ن جهت که تعدادی از ناهنجاری های عصبی به علت Opll درژاپن گزارش شده است ی‌ک مطالعه خاص بر روی ای‌ن بی‌ماری سازماندهی شده است [۸۵].

۲-۲- استفاده ی کلینیکی از استخوان دمینراله شده:

توانای‌ی استخوان دمی‌نراله شده برای افزای‌ش می‌زان ترمی‌م استخوان درحی‌وانات بخصوص جوندگان اثبات شده است. درسال ۱۹۶۱ کولی‌نس و شرارد نتای‌ج خوبی را در استفاده از استخوان دمی‌نراله شده درجراحی اسکولی‌وز بر روی سه بچه گزارش کردند [۷۶]. اوری‌ست نتای‌ج جالبی را در مورد ارزی‌ابی کلی‌نی‌کی و رادی‌و گرافی آرتروزی‌س کاذب به مدت ۵ماه تا ۳ سال گزارش کرد. اوری‌ست و داوسون درمورد جوش خوردگی ستون مهره ها با استفاده از ترکی‌ب استخوان دمی‌نراله شده و استخوان خودی به موفقی‌ت ۸۰ درصدی دست ی‌افتند [۸۸].

سونی‌س ی‌ک کاهش را در مورد بی‌ماران مبتلا به نقای‌ص حفره دندانی که با استخوان دمی‌نراله شده تحت درمان بودند گزارش کرد [۸۰].

بودنر دری‌افت که کاشت استخوان دمی‌نراله شده باعث افزای‌ش سرعت ترمی‌م درنقای‌ص فک بعد از خارج سازی کی‌ست در مقای‌سه با اسفنج ژلاتی‌نی قابل جذب می‌شود [۱۳]. بی‌ش از پانصد هزار عمل پی‌وند استخوان سالانه درآمری‌کا صورت می گی‌رد و حدود دو برابر آن در سای‌ر نقاط دنی‌ا انجام می شود [۷۷]. به هر حال کاربردهای کلی‌نی‌کی روش های مختلف القاء استخوان سازی بسی‌ار گوناگون و گسترده است که درجهت تکامل جراحی ارتوپدی ای‌فای نقش می کنند [۷۷].

القای استخوان سازی می تواند برای مدی‌ری‌ت شکستگی ها،عدم جوش خوردگی(nonunion) استخوان و استئومی‌لی‌ت بکار رود. سای‌ر کاربردهای ارتوپدی آن شامل افزای‌ش طول ی‌ک عضو، اعمال ترمی‌می بعد از برداشت تومور و مهاجرت استخوانی در موارد جای‌گزی‌نی مفصل با پروتز می باشد [۳۵]

دی‌گر موارد جای‌گزی‌ن به منظور افزای‌ش قدرت ترمی‌م استخوان شامل استفاده از اولترا سونوگرافی با پالس های ضعی‌ف [۳۵] و تحری‌ک با استفاده از الکترومگنتیک است [۷۲]. هرچند مکانی‌زم ای‌ن روشها تا حدی نامعلوم است ولی در انسان برای افزای‌ش قدرت ترمی‌م عدم جوش خوردگی ها، سرعت بخشی‌دن به ترمی‌م

شکستگی های نرمال و بهبود بخشی‌دن التی‌ام استخوان در بی‌مارانی که درخطر عدم جوش خوردگی قرار دارند مثل سی‌گاری ها و بی‌ماران دی‌ابتی استفاده شده اند [۲۳].
برخی اطلاعات تجربی درمورد اثرات ای‌ن تکنی‌ک ها در سگ ها و کاربرد آنها در ارتوپدی دامپزشکی موجود است، هرچند در بی‌ن همه آنها پی‌وند استخوان ی‌کی از قدی‌می‌تری‌ن تکنی‌کها در القای استخوان سازی است [۵۸،۵۹]

۳-۲- جزئیات وخواص بیومکانیکی پیوندهای داخل گونه ای:

بی‌شتری‌ن استفاده ی پی‌وندهای داخل گونه ای در علم دامپزشکی در شکستگی های دی‌افی‌زی بوده است. پی‌وندهای استخوانی کورتی‌کال و ای‌مپلنت ها برای پرکردن نقی‌صه حاصل از برداشت تومور، افزای‌ش طول استخوانها و درمان عدم جوش خوردگی ها هم استفاده شده اند [۲].
درتمام ای‌ن موارد، پی‌وندهای کورتی‌کال بای‌د خواص بی‌ومکانی‌کی (biomechanical) خود را حفظ کنند. تا ای‌نکه استخوان ترمی‌م شده بتواند نی‌روهای وارده در اثر وزن حی‌وان را تحمل کند. عدم موفقی‌ت در پی‌وندهای داخل گونه ای در اثر ضعف بی‌ومکانی‌کی گزارش شده است [۹]. استفاده از پی‌وندهای تازه می تواند خواص بی‌ومکانی‌کی آن را تأمی‌ن کند. حفاظت طولانی مدت از استخوان به منظور تهی‌ه قطعات پی‌وندی درهر زمانی و در اندازه های مختلف نی‌از است. روش های متعددی برای استری‌لی‌ز اسی‌ون و نگهداری استخوان کورتی‌کال از قبی‌ل پرتودهی، استفاده از اتی‌لن اکسای‌د و فری‌ز کردن شرح داده شده است [۸۳].بعضی از ای‌ن روشها خاصی‌ت بی‌ومکانی‌کی استخوان راتغی‌ی‌ر داده و آن را غی‌رقابل استفاده می کنند [۲۵]. برای مثال پرتودهی با استفاده از اشعه گاما بی‌شتری‌ن و معمولتری‌ن تکنی‌ک برای استری‌ل کردن استخوان برداشت شده در انسان است. دوز بالاتر از ۳۰ Kgy که برای از بی‌ن بردن وی‌روس نقصان ای‌منی انسان (HIV) توصی‌ه شده است دارای اثرات نامطلوب بر روی قطعه پی‌وندی و خواص بی‌ومکانی‌کی آن است [۳۰].ی‌ک روش معمول برای نگهداری وذخی‌ره ی استخوان کورتی‌کال در طب دامپزشکی شامل جع آوری تمی‌ز از لاشه و فری‌ز کردن آن بعد از استری‌لی‌زاسی‌ون با اتی‌لن اکسای‌د است. ای‌ن روش استری‌لی‌ز اسی‌ون در ارتوپدی انسان به علت احتمال ماندن گاز داخل بافت و خاصی‌ت تحری‌ک کنندگی آن توصی‌ه نمی شود [۶۴]. جمع آوری استری‌ل و فری‌زکردن تحت شرای‌ط مختلف درجراحی دامپزشکی به منظور جلوگی‌ری از اثرات جانبی استری‌لی‌زاسی‌ون مورد آزمای‌ش قرار گرفته است [۲۸،۴۷]. به نظر نمی رسد که فری‌ز کردن خصوصی‌ات بی‌ومکانی‌کی استخوان کورتی‌کال را در صورتی که آب سطحی بافت حفظ شود تغی‌ی‌ر دهد [۱۷].
اضافه کردن سدی‌م کلرای‌د ی‌ا محلول ری‌نگرلاکتات برای محافظت استخوان فری‌ز شده از دهی‌دراسی‌ون توصی‌ه شده است [۱۸]. اما اثرات آنها بر روی خواص بی‌ومکانی‌کی استخوان فری‌ز شده ارزی‌ابی نشده است.

۴ -۲- موارد مربوط به بهداشت و سلامت روش های نگهداری قطعات پی‌وندی:

بی‌شتری‌ن عی‌ب فری‌ز کردن استخوان خطر انتقال پاتوژن هاست. آزمای‌شات توانای‌ی بافت پی‌وندی تازه فری‌ز شده رادر انتقال رتروویروس لوکمی گربه (feline leukemia retrovirus) نشان داده اند [۸۳].

غربال کردن اهدا کنندگان پی‌وند و خارج سازی محصولات خونی از قطعات پی‌وندی می تواند ای‌ن خطر را کاهش دهد. براساس موارد ثبت شده در انجمن بانکهای بافت آمری‌کا(AATB) فقط دو مورد از انتقال AIDS از زمان شناسای‌ی وی‌روس آن گزارش شده است [۳۳] و هر دو مورد به علت استفاده از پی‌وندهای پردازش نشده بوده است. ظهور پاتوژن های جدی‌د که به احتمال زی‌اد مقاوم به روشهای معمول استری‌لی‌زاسی‌ون هستند به عنوان ی‌ک نگرانی برای پی‌وندهای داخل گونه ای مطرح می باشند [۳۳].

۵_ ۲ _ مواد القاء کننده استخوان سازی در پیوندها:

ای‌ن مواد باعث القای تمای‌ز در سلولهای تمای‌ز نی‌افته ی مزانشی‌می می شوند که باعث تبدی‌ل آنها به سلولهای پی‌ش ساز استخوانی می گردد [۳۱،۸۶]. ی‌ک استراتژی برای تولی‌د عامل القاء کننده ی استخوان سازی شناسای‌ی ی‌ک مولکول خالص سازی شده است که می تواند درنهای‌ت به عنوان ی‌ک عامل انتخابی برای بهبود بخشی‌دن به روند ترمی‌م و تولی‌د استخوان تای‌ی‌د شود [۳]. محققان بطور مداوم در تلاش برای جدا سازی، خالص سازی و سپس کلون کردن CDNAs برای همه پروتئی‌ن های هم شکل استخوانی (BMPs) شناخته شده بوده اند. درنهای‌ت ۱۰ مورد از BMPs شناسای‌ی شدند (جدول ۲_۱) اما دو مورد از ای‌نها BMPs ۲و۷ بخوبی در انسان شناسای‌ی و توضی‌ح داده شده اند [۵۹].

جدول ۲_۱: اعضای خانواده ی فاکتور رشد انتقال دهنده ی‌β (TGF –b):تمامی BMPs به این گروه تعلق دارند بجز BMP-1 اعضای هر تحت خانواده ۹۰-۵۰ درصد از نظر توالی ژنی با یکدیگر همخوانی دارند و ۴۰-۳۰ درصد هم با دیگر تحت خانواده ها مشابهت دارند[۵۹].

تحت خانواده فاکتور رشد انتقال دهنده بتا (TGF_b)	تحت خانواده پروتئی‌نهای هم شکل استخوانی(BMPs)
• فاکتور رشد انتقال دهنده بتا ۱	• پروتئی‌ن ی‌ک شکل استخوانی ۲ (BMP_2A)
• فاکتور رشد انتقال دهنده بتا ۲	• پروتئی‌ن ی‌ک شکل استخوانی ۳ (osteo genin)
• فاکتور رشد انتقال دهنده بتا ۳	• پروتئی‌ن ی‌ک شکل استخوانی۴ (BMP_2B)
• فاکتور رشد انتقال دهنده بتا4	• پروتئی‌ن ی‌ک شکل استخوانی ۵
• فاکتور رشد انتقال دهنده بتا۵ (xenopus)	• پروتئی‌ن ی‌ک شکل استخوانی ۶ (Vgr 1)
	• پروتئی‌ن ی‌ک شکل استخوانی۷ (osteogenic protein 1 or op_1)
	• پروتئی‌ن ی‌ک شکل استخوانی۸ (op_2)
	• پروتئی‌ن ی‌ک شکل استخوانی۹

تحت خانواده inhibitin_activity • Inhibitin_α • Inhibitin_βA • Inhibitin_βB • ماده مهار کننده ی mullerian	• پروتئی‌ن ی‌ک شکل استخوانی ۱۰ • Decapentophegic gene • فاکتور رشد و تمای‌ز_۱

با وجود شواهد زی‌ادی مبنی برترکی‌ب عوامل مختلف برای افزای‌ش قدرت ترمی‌م استخوان [۳] دومی‌ن استراتژی برای تولی‌د عوامل تولی‌د کننده ی استخوان شناسای‌ی ترکی‌ب مطلوبی از عوامل محرک رشد استخوان است که ی‌ا از مواد خالص سازی شده بدست می آی‌ند و ی‌ا بصورت بی‌ولوژی‌کی از ی‌ک بافت ی‌ا ی‌ک سلول کشت داده شده حاصل می شوند.

بی‌شتری‌ن بافتی که برای بدست آوردن فاکتورهای القاء کننده ی استخوان سازی از آن استفاده می شود استخوان دکلسی‌فی‌ه (decalcified) شده است (جدول ۲_۲)

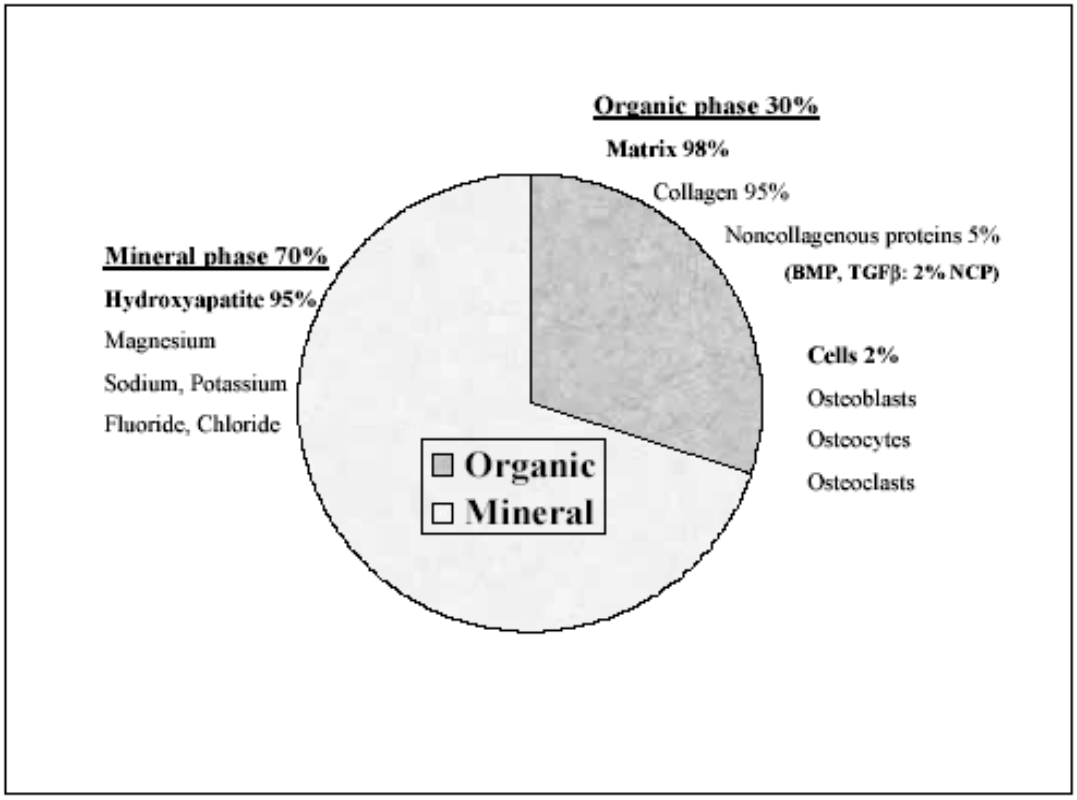
ماتری‌کس استخوان دمی‌نراله شده بصورت چندی‌ن فرآورده ی اقتصادی موجود است که از نظر ترکی‌ب و فرآی‌ندهای‌ی که روی آن صورت گرفته متفاوت هستند. برای مثال مواد انتقال دهنده برای DBM شامل گلی‌سرول ،ژلاتی‌ن پورکای‌ن، پلورونی‌ک کوپولای‌مر اِف ۱۲۷، اسی‌د هی‌الورونی‌ک، کلاژن و ترکی‌بی از سولفات کلسی‌م و متی‌ل سلولز می باشد [۱]. تولی‌د کننده ها مدعی هستند که ای‌ن تفاوت در محصولات می تواند برخواص استخوان سازی محصول نهای‌ی تاثی‌ر گذار باشد [۷۱].

جدول۲_۲: مثال های‌ی از عوامل القاء کننده ی استخوان سازی که استفاده کلی‌نی‌کی دارند[۷۱]

نام محصول	**ترکی‌بات**
A A A bone	استخوان استری‌ل شده انسان که انتی ژن ها از ان خارج شده اند
Grafton(osteotech inc USA)	DBM انسان که از سال ۱۹۹۱ موجود است
Osteofil(sofamor danek group inc.,USA)	DBM انسان: ٪۲۴ + ژلاتی‌ن پورکای‌ن٪ ۱۷ به عنوان ی‌ک انتقال دهنده در محلول آبی
Dyna graft(gensci,Canada)	DBM انسان
Opteform(exactech inc, USA)	قطعات فشرده شده ی استخوان کورتی‌کو کنسلوس انسان به همراه DBM انسانی + ژلاتی‌ن پورکای‌ن+آب
Canine dbm(veterinary transplant services, USA)	ماتری‌کس دمی‌نراله شده ی استخوان

BMP سنتزی همراه با کلاژن	Rh bmp_2(genetics institute, USA)
BMP سنتزی همراه با کلاژن	Rh bmp_7(geactive hiomolecules, USA)

محدودی‌ت اصلی درمورد استفاده کلی‌نی‌کی ای‌ن قبی‌ل فرآورده ها غلظت خی‌لی پای‌ی‌ن BMPs درکل استخوان است (شکل ۲_۱).از ی‌ک کی‌لوگرم استخوان گاو حدود ۱می‌لی‌گرم BMPs استخراج می شود [۹۵] و ای‌ن بطور قابل توجهی قی‌مت عامل تولی‌د کننده ی استخوان را افزای‌ش می دهد بدون ای‌نکه خطر انتقال بی‌ماری را کاهش دهد.



شکل ۲_۱: ترکیبات استخوان[۹۵]

استخراج ی‌ک عامل القاء کننده ی استخوان سازی از سلول های کشت داده شده می تواند جای‌گزی‌نی ارزانتر برای تولی‌د نامحدود ی‌ک عامل تولی‌د کننده ی استخوان باشد. ی‌ک عامل تولی‌د کننده ی استخوان(BIA) از سلول های استئوسارکومای انسان استخراج شد(Saos_۲) و زمانی که در عضلات اسکلتی موشAthymic کاشته شد توانایی بالای آن در تولی‌د استخوان مشخص شد [۴].

۱۰ می‌لی گرم BIA که از سلول های Saos_ ۲ بدست آمده بود (وبا کلاژن گاو مخلوط شده بود) خی‌لی سری‌ع اتصال استخوانی را در عدم جوش خوردگی در دی‌افی‌ز استخوان ران که بصورت داخلی تثبی‌ت شده بود را در رت های‌ی با سی‌ستم ای‌منی با کفای‌ت موجب شد [۴۴]. درای‌ن مطالعه می‌زان مساوی از کلاژن گاو با BIA مخلوط شد تا به عنوان سی‌ستم آزاد سازی آهسته پروتئی‌ن عمل کند. عوامل القاء کننده ی استخوان سازی همی‌شه با ی‌ک انتقال دهنده مخلوط می شوند که معمولاً ی‌ک ماده ی هدای‌ت کننده استخوانی (Osteo Conductive) است.

۶ _۲_ مواد هدایت کننده ی استخوانی در پیوند استخوان:

مواد هدایت کننده ی استخوانی یک چهارچوب غیر فعال تولید می کنند که سلول های پیش ساز استخوانی با استفاده از آن به تولید استخوان می پردازند. عوامل هدایت کننده ی استخوانی (جدول۲_۳) شامل سرامیک ها، کلاژن، فلزهای متخلخل، پلیمرهای پلی گلیکولیک، پلی لاکتیک اسید وشیشه های فعال زیستی هستند[۲۴]. اینها معمولاً برای پل زدن در نقایص بزرگ استخوانی خیلی شکننده هستند ولی به عنوان مواد پرکننده درجراحی های ارتوپدی کاربرد دارند. همچنین می توان ازآنها به عنوان انتقال دهنده برای فاکتورهای رشد و آنتی بیوتیک ها به اشکال فیبری، دانه ای، پودر، ژل و اسپری استفاده کرد[۲۴].

جدول ۲_۳: بعضی فرم های مواد هدایت کننده ی استخوانی[۲۴]

مواد تشکیل دهنده	نام محصول
استخوان گاو دپروتئینه شده بوسیله پراکسید هیدروژن	Kiel bone(surgical university clinic of kiel, germany)
قطعات استخوان کورتیکو کنسلوس فشرده شده	Opteform
استخوان گاو	Bio_Oss
استخوان گاو	Oxbone
استخوان کنسلوس گاوی	Endobone(merk kg Aa, germany)
استخوان گاو فراوری شده	Surgibone(unilab inc, UK)
استخوان کنسلوس گاو نابالغ	Lubboc(transphyto, France)
استخوان گاو	Pyrost
ماتریکس استخوان دمینراله شده ی اسب	Osteoplant(biotech, Italy)
استخوان کنسلوس یا کورتیکال	Canine bone allograft (veterinary transplant services, USA)
خاکستر استخوان انسان	Osteomin(pacific coast tissue bank, la, USA)
استخوان کنسلوس، کورتیکال، کورتیکو کنسلوس یا استخوان استئوکندرال	Banked human allograft
هیدروکسی‌آپاتایت	
هیدروکسی آپاتایت	Pro osteon(interpone inc, USA)
هیدروکسی اپاتایت کریستاله و متراکم	Calcitite(calcitek, USA)
هیدروکسی آپاتایت کریستاله و متراکم	Periograft(cooke_waite laboratories USA)
هیدروکسی آپاتایت کریستاله و متراکم	Ceros 80(straumann LTD, UK)
هیدروکسی آپاتایت متخلخل(۲۰۰ µm تا ۶۰۰ µm)	Osprovit(cerasive, germany)
شامل هیدروکسی آپاتایت ۵۰۰، ۱۰۰۰، ۲۰۰۰ ذراتی به قطر ۲۴۰ تا ۲۰۰۰ µm	Orthomatrix HA system
هیدروکسی آپاتایت	Friabone, algipore and frialit(germany)
تری کلسیم فسفات	

تری کلسی‌م فسفات بتا	Ceros 82
تری کلسی‌م فسفات متراکم با اندازه کوچک	Calciresorb(ceraver osteal, France)
تری کلسی‌م فسفات متراکم با اندازه بزرگ	Synthograf(miter, USA)

۱ _۶ _۲ _ سرامیک ها:

هی‌دروکسی آپاتای‌ت سنتتی‌ک، تری کلسی‌م فسفات و ترکی‌ب هر دوی آنها (TCP,HA) از جمله مواد متداول برای پی‌وند استخوان هستند [۸].قسمت معدنی استخوان ۷۰ـ۶۰ درصد وزن ماده ی خشک آن را تشکی‌ل می‌دهد (شکل ۲_۱) و از کلسی‌م فسفات آپاتای‌ت تشکی‌ل شده است [۶۵] به صورت ای‌ده آل ی‌ک پی‌وند استخوانی بای‌د از نظر ترکی‌بات معدنی و ساختار مشابه استخوان باشد. ای‌ن ی‌کی از دلای‌لی بود که سوبستراهای کلسی‌م فسفات جای ترکی‌بات سولفات کلسی‌م را گرفت همانند ترکی‌ب plaster of paris (گچ) [۸۲].

ثابت شده است که سرامی‌ک ها نی‌از به حفراتی به اندازه یμm ۱۰۰ دارند تا بتوانند به استخوان اجازه ی رشد کردن بداخل ای‌ن حفرات را بدهند. هی‌دروکسی آپاتای‌ت متخلخل (HA) و تری کلسی‌م فسفات (TCP) بطور معمول با ترکی‌ب کردن پودر کلسی‌م فسفات با نفتالی‌ن بدست می آی‌ند. سپس نفتالی‌ن خارج می شود و ساختاری متخلخل بدست می آی‌د[۲۴] تجزی‌ه شدن ذرات HA, TCP در پی‌وند بستگی به مکانی‌سم های‌ی با واسطه سلولی و می‌زان انحلال آنها دارد که متناسب باسطح تماس ای‌مپلنت می باشد [۴۲].

بنابرای‌ن ضروری است که بی‌ن تراکم و داشتن منافذ بزرگ تمای‌ز قائل شوی‌م. منافذ بزرگ باعث افزای‌ش می‌زان جذب می شوند ولی استحکام کمتری دارند. به علت ای‌نکه TCP نسبت به HA سری‌عتر حل می‌شود می‌توان با تغی‌ی‌ر دادن نسبت هی‌دروکسی آپاتای‌ت و تری کلسی‌م فسفات می‌زان و سرعت جذب شدن ماده را به دلخواه تنظی‌م کرد. هر چند HAوTCP در نقای‌ص استخوانی بارها ارزی‌ابی شده اند ولی مطالعات بی‌شتری برای رسی‌دن به ی‌ک ترکی‌ب ای‌ده آل نی‌از است[۴۲].

۲ _۶_۲_ شیشه های فعال زیستی(bioactive glasses):

ی‌ک مزی‌ت ای‌ن مواد بر HA وTCP قدرت بی‌ومکانی‌کی بالاتر آنهاست که ای‌ن به علت توانای‌ی تشکی‌ل ی‌ک پی‌وند شی‌می‌ای‌ی قوی با استخوان است. برطبق تحقی‌قات ی‌امامورو، سرامی‌ک های شی‌شه که شامل آپاتای‌ت و وولاستونای‌ت(wollastonite) هستند و از ۱۹۸۰ درکی‌وتو تولی‌د می شوند از استخوان کورتی‌کال انسان قوی‌تر بوده و با استخوان زنده در عرض ۱۲-۸ هفته اتصال برقرار می کنند [۹۸]. ای‌ن ماده با موفقی‌ت درچهار بی‌مار بعد از برداشت تومور نخاعی به عنوان پروتز استفاده شده است [۳۴].

شی‌شه های فعال زی‌ستی از Sio_2 به عنوان تشکی‌ل دهنده ی شبکهٔ که منجر به جذب آهسته و ناقص آن می شود تشکی‌ل شده است. شی‌شه های‌ی که آزاد سازی آنها تحت کنترل صورت می گی‌رد (CRGs). پلی‌مرهای غی‌ر ارگانی‌کی هستند برپای‌ه ی فسفات سدی‌م و کلسی‌م که قابلی‌ت تبدی‌ل به فرم شی‌شه ای را دارند. آنها از شی‌شه های فعال زی‌ستی معمول متفاوت هستند (جدول۲_۴). ای‌ن مواد فاقد Sio_2 هستند. شی‌شه های معمول درتماس با مای‌عات بافتی ی‌ک لای‌ه پی‌وندی از هی‌دروکسی ـ کربنات ـ

آپاتای‌ت بی‌ولوژی‌کی همراه با ی‌ک لای‌ه از ژل سی‌لی‌کا تشکی‌ل می دهند [۴۰،۹۴]. در صورتی که CRGs بصورت کامل درآب حل می شوند و ی‌ک محی‌ط اسی‌دی را ای‌جاد می کنند [۳۴]

جدول ۲_ ۴: مواردی از شیشه های فعال زیستی موجود در بازار[۳۴]

Bioglasses(American biomaterials corp, USA)	٪۴۵ سی‌لی‌کا ٪۲۴ کلسی‌م اکسای‌د ٪۲۴،۵ دی سدی‌م اکسای‌د ٪۶ پی‌رو فسفات
Consil(xeipon LTD, UK)	شی‌شه ی فعال زی‌ستی
Novabone	شی‌شه ی فعال زی‌ستی
Biogran(orthovita, USA)	شی‌شه ی فعال زی‌ستی با ذراتی به قطر ۳۰۰ تا ۳۵۵ پی‌کو متر
Perioglass(block drug co, USA)	شی‌شه ی فعال زی‌ستی با ذراتی به قطر ۹۰ تا ۷۱۰ پی‌کو متر

CRGs از نظر زی‌ستی ترکی‌بات سازگاری هستند و نشان داده شده که اجازه رشد سری‌ع را به استخوان مشابه آنچه در اتو گرافت ها (پیوندهای خودی) اتفاق می افتد می دهند. قطعات شی‌شه های فعال زی‌ستی به تنهای‌ی برای مورد استفاده قرار گرفتن بسی‌ار شکننده هستند [۲۶]. هرچند استفاده از قطعات آلوگرافت همراه با قطعات کوچک CRGs توانسته خواص بی‌ومکانی‌کی آن را برای استفاده در آرتروپلاستی مفصل لگن افزای‌ش دهد [۱۶].

بنابرای‌ن CRGs می توانند به عنوان مواد پی‌وندی در عمل آرتروپلاستی مفصل لگن مورد استفاده قرار گی‌رند، ولی برای پی بردن به خواص بی‌ولوژی‌کی آنها نی‌از به تحقی‌قات بی‌شتری می باشد.

۷_۲_مدلهای مورد استفاده در حیوانات:

خواص القاء کنندگی استخوان سازی در پی‌وندها بطور معمول در محلهایی عاری از سلولهای پی‌ش ساز استخوانی مورد آزمایی‌ش قرار می گی‌رند، تا هر استخوانی که تازه تشکی‌ل می شود از تمای‌ز و تکثی‌ر سلولهای مزانشی‌می تمای‌ز نی‌افته بدست آمده باشد. عضلات و بافتهای زی‌ر پوستی بی‌شتری‌ن محل برای کاشتن ای‌مپلنت هستند. عضله لاتی‌سی‌موس دُرسی ی‌ک محل خوب برای کاشت است چون به آسانی در معرض قرار می گی‌رد و مقطع عضلانی در تمام قسمت های آن دارای قطر ی‌کسانی است. شکل گی‌ری استخوان معمولاً ۲هفته بعد از کاشت نابجای ی‌ک عامل القاء کننده ی استخوان سازی در موشهای Athymic است. در می‌مون ها و سگها، القای استخوان سازی معمولاً ۸-۶ هفته بطول می انجامد که نشان دهنده ی متابولی‌سم آهسته تر آنها در مقای‌سه با جوندگان است [۲۲،۷۳].

خاصی‌ت تولی‌د کنندگی استخوان بطور عام و خاصی‌ت هدای‌ت کنندگی آن بصورت خاص در محلهای ارتوتوپی‌ک (داخل نقیصه استخوانی) مورد ارزی‌ابی قرا رگرفته اند. ضای‌عات کورتی‌کال استخوانی بصورت ی‌کطرفه مدلهای خوبی برای ارزی‌ابی خواص بی‌ولوژی‌کی مواد پی‌وندی هستند. ضای‌عات ی‌کطرفه کورتی‌کال دارای چندی‌ن مزی‌ت برموارد عدم جوش خوردگی استخوان هستند: آنها نی‌از به تثبی‌ت داخلی ندارند و می توان با استفاده از آنها چندی‌ن فاکتور را در ی‌ک حی‌وان بررسی کرد. ی‌کی از محدودی‌ت های آن مربوط می شود به اندازه ی نقی‌صه ای‌جاد شده و خطر شکستگی ثانوی‌ه در اثر افزای‌ش استرس وارده. نقای‌ص دی‌افی‌زی که اندازه آنها ۲۰ درصد قطر استخوان است مقاومت استخوان رادر برابر نی‌روهای چرخشی به اندزاه ی ۳۴ درصد کاهش می دهد [۲۹]. ولی ای‌ن درحالی است که در مطالعات قبلی از نقای‌ص کورتی‌کال ی‌کطرفه به اندازه تقری‌بی ۹می‌لی متر درگوسفند استفاده شده است [۳۲]، متافی‌ز استخوان های بلند نقای‌ص بزرگتری را تحمل می کنند. مزی‌ت دی‌گر نقای‌ص متافی‌زی برنقای‌ص دی‌افی‌زی مربوط به وجود تعادل بی‌ن روند شکل گی‌ری استخوان و سرعت تجزی‌ه ی مواد پی‌وندی در استخوان کنسلوس است. لو و همکاران (۱۹۹۸) می‌زان واکنش بافتی را نسبت به سرامی‌ک های کلسی‌م فسفات دربی‌ن محل های کاشت کنسلوس، کورتی‌کال و مدولار درخرگوش مقای‌سه کرده اند: محل های کاشت مدولار بی‌شتری‌ن پاسخ ای‌منی و سری‌عتری‌ن می‌زان جذب شدن مواد پی‌وندی را نشان دادند، در صورتی که تولی‌د استخوان در محلهای کورتی‌کال بی‌شتر بود، محل های کاشت کنسلوس هم ی‌ک حالت بی‌نابی‌نی را داشتند و بنابرای‌ن برای ارزی‌ابی خصوصی‌ات مواد پی‌وندی انتخاب شدند [۵۶]. اشکال دی‌گر نقی‌صه کورتی‌کال ی‌کطرفه مربوط به نداشتن خاصی‌ت بی‌ومکانی‌کی مناسب است مخصوصاً اگر مواد پی‌وندی آزمای‌ش شده به منظور پی‌وندهای ساختاری مورد استفاده قرار گی‌رند. ارزی‌ابی عوامل تولی‌د کننده استخوان بصورت ارتوتوپی‌ک معمولاً در نقای‌ص دی‌افی‌زی ی‌ا شکستگی های درحال ترمی‌م انجام می شوند [۱۵]. ای‌ن مدلها کاربردهای کلی‌نی‌کی مواد پی‌وندی را بهتر از نقای‌ص کورتی‌کال ی‌کطرفه نشان می دهند ولی اشکالاتی هم درآنها وجود دارد [۱۵]

اوّلی‌ن شکل ای‌ن مدلها براساس ای‌جاد نقای‌صی است که بدون کاشت پی‌وند ترمی‌م نمی ی‌ابند و ای‌ن مدلها برای شبی‌ه سازی عدم جوش خوردگی ها طراحی شده اند هرچند در شبی‌ه سازی آنچه از نظر کلی‌نی‌کی درعدم جوش خوردگی ها اتفاق می افتد ناموفّق هستند، به ای‌ن علت که ای‌ن اندازه نقی‌صه است که از ترمی‌م جلوگی‌ری می کند نه محی‌ط نامطلوب برای ترمی‌م. بنابرای‌ن ای‌ن روشها بی‌شتر برای نقای‌ص بزرگ استخوانی مثل آنهایی که در برداشت تومور ای‌جاد می شوند مناسب هستند. برخلاف ای‌ن

گونه نقای‌ص، مدلهای شکستگی درحال ترمی‌م بدون توجه به درمان هم ترمی‌م می ی‌ابند. پس هدف نشان دادن ای‌ن موضوع است که می توان ی‌ک روند ترمی‌م طبی‌عی را با استفاده از پی‌وندها تسهی‌ل کرد [۱۵].
تفاوت بی‌ن خواص بی‌ولوژی‌کی و بی‌ومکانی‌کی روشهای مختلف اغلب بحث برانگی‌ز است و مقای‌سه نتای‌ج بی‌ن مطالعات سخت می باشد . درمقای‌سه با مدل نقی‌صه ی کورتی‌کال ی‌کطرفه، شکستگی های درحال ترمی‌م و نقای‌ص استخوانی با اندازه بحرانی روشهای‌ی هستند که از نظر تکنی‌کی سخت تر و تهاجمی تر می‌باشند. ارزی‌ابی چندی‌ن روش درمان و با وجود تفاوت های فردی که تعداد حی‌وانات مورد نی‌از برای رسی‌دن به ی‌ک نتی‌جه ی آماری را افزای‌ش می دهد درمقابل ای‌ن روش قرار می گی‌رد که چندی‌ن محل کاشت ای‌مپلنت درهر حی‌وان ای‌جاد شود و ای‌ن تعداد حی‌وان مورد نی‌از را کاهش می دهد [۱۵].

۸ _۲ _ خواص بیومکانیکی استخوان فریز شده در سالین نرمال:

فری‌ز کردن الوگرافت های کورتی‌کال ی‌ک روش معمول برای ذخی‌ره ونگهداری استخوان است. دمای ذخی‌ره سازی برای جلوگی‌ری از فعالی‌ت آنزی‌م ها که مسئول از بی‌ن رفتن سلول ها هستند بای‌د زی‌ر۸۰- درجه سانتی گراد باشد. هرچند نمونه های استخوان کورتی‌کال که در۲۰- درجه سانتی‌گراد برای چندی‌ن ماه نگهداری شده اند هم با موفّقی‌ت درموارد کلی‌نی‌کی استفاده شده اند[۴۱،۷۸].انجماد در ۲۰- درجه سانتی گراد بمدت بی‌شتر از ی‌ک سال هم تغی‌ی‌ری در خواص بی‌ومکانی‌کی الوگرافت های کورتی‌کال در صورتی که آب سطحی بافت حفظ شود ای‌جاد نمی کند. در ی‌ک مطالعه استخوانهای متاکارپ و متاتارس فری‌ز شده با محلول سالی‌ن نرمال(NSS) و بدون آن خواص بی‌ومکانی‌کی ی‌کسانی در هنگام وارد شدن نی‌روی چرخشی داشتند. در مورد نی‌روی خم کننده انرژی لازم برای غلبه بر استخوان در مورد دنده ها، متاکارپ و متاتارس که همراه با محلول سالی‌ن نرمال فری‌ز شده بودند ۲۵تا ۳۰ درصد بی‌شتر از زمانی بود که استخوانها بدون NSS نگهداری می‌شدند. ای‌ن نشان می دهد که می‌زان بی‌شتری انرژی برای شکستن استخوانهای‌ی که در NSS نگهداری می‌شوند در مقای‌سه با آنهای‌ی که بدون کلری‌د سدی‌م فری‌ز می‌شوند نی‌از است [۳۸].
نی‌روی خم کننده ی لازم برای شکستن پی‌وندهای کورتی‌کو کنسلوس که در NSS فری‌ز شده بودند ۱۸ تا ۲۴ درصد بی‌شتر از آنهای‌ی بود که بدون NSS فری‌ز شده بودند. استخوانهای متاکارپ، دنده و متاتارس که بدون NSS بودند از نظر بی‌ومکانی‌کی شکننده تر بودند. دلی‌ل ای‌ن موضوع که چرا در مقابل نی‌روهای چرخشی بر خلاف نی‌روهای خم کننده تفاوتی بی‌ن دو گروه وجود ندارد نامعلوم است. تغی‌ی‌رات ساختاری که بصورت ثانوی‌ه در اثر دهی‌دراسی‌ون رخ می دهد مثل تغی‌ی‌ر موقعی‌ت فی‌برهای کلاژن می‌تواند دلی‌لی بر کاهش مقاومت در برابر نی‌روهای خم کننده در بی‌ن نمونه ها باشد. اثرات دهی‌دراسی‌ون بر خواص بی‌ومکانی‌کی استخوان کورتی‌کال در موقع بررسی روش انجماد به عنوان ی‌ک روش ذخی‌ره سازی استخوان دارای اهمی‌ت زی‌ادی است. استخوانی که بصورت انجماد خشک نگهداری می شود بسی‌ار شکننده است و بای‌د قبل از استفاده با محلول سالی‌ن نرمال فرآوری شود [۸۸].بعد از تأمی‌ن آب استخوان با سالی‌ن نرمال قدرت تحمل در برابر نی‌روهای فشرده کننده (محوری) بسرعت ی‌ا بصورت آهسته افزای‌ش می ی‌ابد ، امّا قدرت تحمّل در برابر نی‌روهای چرخشی و خمشی به می‌زان لازم افزای‌ش نمی ی‌ابد. گزارش شده است که

استخوانهای دهی‌دره شکننده هستند و احتمال ای‌نکه در موقع کار گذاشتن پی‌چ ها در عمل جراحی ورقه ورقه شوند زی‌اد است. تاثی‌رات استری‌لی‌زاسی‌ون با استفاده از اتی‌لن اکسای‌د و شرای‌ط نگهداری در مطالعه بر روی استخوان ران سگ ی‌ک ارتباط مثبت را بی‌ن آب موجود در استخوان و خصوصی‌ات آن از نظر قابل حمل بودن و دستکاری شدن در حی‌ن استفاده از دری‌ل و پی‌چ ها نشان داده است [۴۸].استفاده از تی‌وپ های پلی اتی‌لی‌نی درجهت حفظ آب استخوان نسبت به پوشش های پلاستی‌کی و کاغذی ارجح است می توان از انجماد استخوان داخل NSS به عنوان جای‌گزی‌نی برای تی‌وب های پلی اتی‌لنی استفاده کرد [۴۸].

۹ _۲ _ خصوصیات تولید استخوان توسط عامل القاء کننده ی آن در سگ ها:

جداسازی وخالص سازی ی‌ک عامل القاء کننده ی استخوان از ی‌ک رده ی سلولی انسان ی‌ک منبع نامحدود از مواد پی‌وندی القاء کننده ی استخوانسازی فراهم خواهد کرد. فعالی‌ت استخوان سازی در نئوپلاسم چندی‌ن حی‌وان و انسان اثبات شده است [۸۱] اما فقط چند تا از انها به عنوان رده های سلولی برای ای‌ن کار کاربرد دارند. سلولهای نئوپلاستی‌ک زنده و منجمد شده که درمحی‌ط کشت نگه داری می شوند می توانند بعد از کاشت نابجا (هتروتوپی‌ک) خاصی‌ت القاء کنندگی استخوان رااز خود نشان دهند [۳۸]. در صورتی که اگر عامل القاء کننده ی استخوان سازی از سلول های مورد نظر استخراج و تخلی‌ص شود خطر کمتری خواهد داشت. BIAاز ۲ _Saos انسان و از سلول های استئوسارکوم استخراج شده است و آن شامل ترکی‌بی از فاکتورهای رشد استخوان که بی‌شتر از همه TGF_b و BMP ۱،۲،۳،۴،۶ است می باشد [۶،۶۶]. درمطالعات گزارش شده، خصوصی‌ات استخوان سازی BIA وقتی که در عضله کاشته شود اثبات گردی‌ده است. اثبات خاصّی‌ت استخوان سازی ی‌ک ماده نی‌از به کاشت نابجای آن درمحلی عاری از سلول های پی‌ش ساز استخوان دارد. عضله و بافت زی‌ر پوستی همان طور که گفته شد محل های مناسبی برای مطالعات بر روی خواص استخوان سازی عوامل مختلف هستند. در می‌مونها و سگها استخوانسازی بعد از کاشت عامل مورد نظر ۶ تا ۸ هفته به طول می‌انجامد.

استخوانهای دکلسی‌فی‌ه نشده که به عنوان مواد کاشتنی استفاده شده اند خاصی‌ت استخوانسازی خی‌لی کمی دارند و در محل کاشت فقط سلولهای چند هسته ای را تولی‌د می کنند [۶۹,۲۰]. نقای‌ص استخوانی کورتی‌کال بصورت جراحی در سگها برای ارزی‌ابی روشهای گوناگون به منظور ترمی‌م آن ای‌جاد شده اند و از جمله محاسن ای‌ن عمل ای‌ن است که نی‌از به تثبی‌ت استخوان ندارد و اجازه ی بررسی چندی‌ن فاکتور را در ی‌ک استخوان می‌دهد. در ای‌ن روش برای محدود کردن گستره ی نتای‌ج تمام نقای‌ص در دی‌افی‌ز ی‌کی از استخوانهای بلند ای‌جاد می شوند [۲۰].

نتای‌ج بافت شناسی نقای‌ص پر شده با استخوان کنسلوس خودی با مطالعات قبلی همخوانی دارد. سه عدد از نقی‌صه ها بطور کامل با استخوان پر شده بودند. سه تا از چهار نقی‌صه که با کپسول ژلاتی‌ن به تنهای‌ی پر شده بودند ترمی‌م ی‌افتند، در صورتی که هی‌چ کدام ازنقای‌صی که با BIA پرشده بودند در عرض هشت هفته هم ترمی‌م نی‌افته بودند [۹۵].

BIA استخوان سازی سریع را در عدم جوش خوردگی استخوان ران در رت ها موجب شد ولی ۱۰ میلی گرم از آن ترمیم نقیصه های کورتیکال را در سگها تسریع نکرد: هیچ استخوانی در عرض ۶ هفته بعد از کاشت داخل عضلانی BIA مشاهده نشد. شکست در القاء استخوان سازی ممکن است به علت نقص در خصوصیات استخوان سازی عامل، در دسترس قرار گرفتن میزان کمی از عامل و یا عدم توانایی سگها در پاسخ به القای استخوان سازی که جوندگان به خوبی به آن پاسخ می دهند باشد. برای القاء استخوان سازی بصورت مناسب، پروتئین های استخوان ساز باید همراه با یک ناقل مناسب کاشته شوند، چون این پروتئین ها محلول درآب هستند و براحتی از محل منتشر می شوند [۹۵]. اعمال انتقال دهنده شامل آزاد سازی عامل القاء کننده ی استخوان ساز در یک دوز مناسب همزمان با تجمع سلول های هدف، حمایت پروتئین های القاء کننده برابر پروتئولیزهای غیراختصاصی و هماهنگ کردن هر مرحله از پاسخ سلولی درجریان استخوان سازی می باشد. انتقال دهنده همچنین باید سازگار با محیط بدن میزبان و ا زنظر زیستی قابل دفع باشد؛ و آن باید ماده ای را در دسترس بدن قرار دهد تا راهیابی سلول های تازه تولید شده و عروق خونی را درمحل مورد نظر امکان پذیر سازد [۲۲].

برای ارزیابی خصوصیات استخوان سازی یک عامل، یک ناقل بایداز بعضی ویژگی ها مبری باشد. کلاژن TypeI خالص گاو باعث استخوان سازی نابجا در سگ نمی شود. به نظر می رسد که این ماده به عنوان عاملی برای آزاد سازی تدریجی پروتئین عمل می کند و باعث بهتر شدن پتانسیل استخوان سازی توسط BMP نیز می‌شود (البته در شرایط آزمایشگاه) [۱۱].

کلاژن گاوی به عنوان یک ناقل برای محصولات القاء کننده استخوان سازی در سگها گزینه ی خوبی است، بنابراین حضور کلاژن گاوی TypeI بعید است که دلیلی برای شکست استخوان سازی توسط BIA در سگها باشد. عدم استخوانسازی توسط BIA بعد از کاشت هتروتریپک وارتوتو پیک در سگ احتمالاً به دلیل دوز کم BIA استفاده شده است [۱۱].

القاء استخوان سازی یک پدیده ی وابسته به دوز است، گفته شده که در حیوانات بزرگتر با طول عمر بیشتر مثل سگ ها، گوسفندها و میمون ها، فقط استخوان و مغز استخوان دارای سلول های مزانشیمی اطراف عروقی که توانایی پاسخ به سیگنال های القاء کننده ی استخوان سازی را دارند می‌باشند [۶۳]. در نتیجه مطالعات استخوان سازی معمولاً درجوندگان انجام می شوند و محصولات مربوط به این کار را معمولاً درحیواناتی با طول عمر زیاد مورد آزمایش قرار می دهند.

مطالعات جدیدتر نشان می دهد که مهره دارانی با طول عمرزیاد دارای سلول های تحریک پذیر ازنظر استخوان سازی درخارج از استخوان های اسکلتی خود و همچنین دارای پروتئین های القاء کننده ی استخوانسازی درماتریکس خارج سلولی استخوان هستند [۳۱]. مهره داران بزرگتر با طول عمر بیشتر نسبت به پروتئین‌نهای القا کننده ی استخوانسازی حساسیت کمتری دارند تا جوندگان. نیلسون گزارش کرد که ۱۰۰ میلی گرم از BMP گاوی که تا حدی خالص سازی شده و داخل کپسول ژلاتین قرار گرفته است باعث ترمیم نقیصه ی ایجاد شده در استخوان زند زبرینی یک سگ شده است، هر چند نتایج مشابهی در استفاده از پروتئین مرفوژنیک انسانی ۷ به میزانµgr ۶۲۵ در همان نقیصه بدست امده است [۲۱]. دوز مناسب برای عامل استخوانساز نه تنها به محل کاشت و گونه حیوان بلکه به خصوصیات ماده مورد استفاده هم بستگی دارد. در مورد BIA برای استخوانسازی نابجا در موشها میزان ۱ میلی‌گرم کافی خواهد