

## Craniomaxillofacial Bone Engineering by Scaffolds Loaded with Stem Cells: A Systematic Review

Fahime Sadat Tabatabaei<sup>1</sup>, Saeed Reza Motamedian<sup>2</sup>, Farshad Gholipour<sup>3</sup>, Keikhosro Khosraviani<sup>2</sup>, Arash Khojasteh<sup>4\*</sup>

<sup>1</sup>Assistant Professor, Dept. of Dental Materials, Dental School, Shahid Beheshti University of Medical Sciences, Tehran- Iran.

<sup>2</sup>Undergraduate Student, Dental School, Shahid Beheshti University of Medical Sciences, Tehran- Iran.

<sup>3</sup> Undergraduate Student, Medical School, Tehran University of Medical Sciences, Tehran- Iran.

\*<sup>4</sup>Corresponding Author: Assistant Professor, Dept. of Oral & Maxillofacial Surgery, Dental School, Shahid Beheshti University of Medical Sciences, Tehran- Iran.

E-mail: arashkhojasteh@gmail.com

### Abstract

**Objective:** The concept of tissue engineering holds huge promise for the future treatment of osseous defects. For bone tissue engineering, stem cells are applied on supporting scaffolds under controlled stimulation with growth factors. Scaffolds are provisional matrices for bone growth providing a specific environment for tissue development and favoring cellular attachment, growth and differentiation. To date, ceramics, polymers, and composite scaffolds have been widely used for bone tissue engineering in various in-vitro and animal studies. The objective of this article was to review the advances in jaw bone engineering from a scaffold material point of view.

**Methods:** A review of literature was carried out by using Medline database and searching topics like “craniomaxillofacial tissue engineering”, “bone regeneration”, “scaffold”, “oral surgery”, “stem cell+ scaffold”, “xenograft” and “allograft”. Animal and human studies evaluating repair of craniomaxillofacial defects with scaffold and stem cells, were considered in this study.

**Results:** A total of 64 studies were evaluated.

**Conclusion:** Based on the results of this literature review, although autogenous bone grafting has remained the preferred strategy for treatment of bone defects, rapid prototyping (RP) techniques do offer great opportunities to generate suitable scaffolds for bone tissue engineering in near future.

**Key words:** Tissue engineering, Bone regeneration, Scaffold, Stem cells, Craniomaxillofacial, Oral surgery, Allograft

Please cite this article as follows:

Tabatabaei 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

Received: 15.05.2012

Final Revision: 16.7.2012

Accepted: 23.07.2012

### Introduction:

Craniomaxillofacial defects due to trauma, periodontal disease, surgical bone resection and congenital and acquired defects decrease bone volume and do not heal spontaneously. Such defects require bone grafting (1, 2). Autogenous bone grafting is still the gold standard for reconstruction of these defects. However, its disadvantages including its limitation, painful surgery, risk of infection, bleeding, nerve damage and loss of function have made the researchers to look for an alternative (3).

Tissue engineering was first introduced in early nineties to make up for these limitations. It is the science of designing and manufacturing new tissue to resume and restore the function of defected or lost tissues. The principals of tissue engineering are based on biological and molecular cell proliferation, and tissue formation through biologic engineering (4). Correct perception of the function of cells, structure of the extracellular matrix and adequate knowledge about the structure of scaffolds for providing a suitable environment for adhesion and maintenance of cells are the key concepts of tissue engineering (5). Bone tissue engineering necessarily requires 3 components:

preosteoblastic cells, osteogenic growth factor, and a scaffold for cell adhesion and preserving cell function (5-7). The most important superiority of tissue engineering over autogenous bone grafting is that the tissue graft in exogenous tissue engineering can be produced outside the body and therefore has no limitation and does not do any damage to the living cells (7).

Stem cells have a great potential for application in cell-mediated treatments and tissue engineering due to their self-renewal property and ability to differentiate to various cells such as osteoblasts under the induction of host tissue or culture medium (8-10). However, one drawback of tissue engineering is that it requires large amounts of cells (11). In osteogenic tissue engineering, stem cells need growth factors to start their function (5). Growth factors can be provided for cells through different methods. Transmission of gene encoding growth factor to the host cell (12-14), affinity of growth factor to the scaffold and its controlled release during the degradation of scaffold (15, 16), use of scaffolds that contain growth factor in their natural structure (17, 18) and cell culture in presence of growth factors (19) are among these techniques.

A scaffold is required for the migration of cells to the site of defect. It also plays a key role for progenitor cells in tissue engineering (20). Initially, a scaffold should create a suitable extra cellular matrix for growth and differentiation of cells. It should also be able to reconstruct and resume the proper function of tissue (1). Considering the fact that at present numerous commercial scaffolds are available in the market for application in tissue engineering, the clinicians and researchers should compare their choice of scaffold with the ideal one before application for bone reconstruction.

In summary, an ideal scaffold for bone tissue engineering should have the following characteristics:

- 1- Biocompatibility
- 2- Easy application and having the ability to be fixed in the defect
- 3- Having osteoconductive and osteoinductive properties

- 4- Biodegradation rate similar to the pace of new bone formation in the body
- 5- Having a continuous porous structure to allow for growth and differentiation of stem cells and import and export of materials and substances
- 6- Having mechanical properties similar to that of the natural bone
- 7- Having the potential for rapid angiogenesis (1, 21-23)

To date, no ideal scaffold has been found to meet all the above mentioned criteria for bone tissue engineering.

For three dimensional designing of scaffolds for bone reconstruction, several considerations have to be followed such as having a continuous porous structure (24, 25). A summary of several techniques used for manufacturing of synthetic bone scaffolds is presented below (For further details regarding each technique you can refer to the review articles published in this respect) (22, 26):

- 1) Solvent-Casting and Particulate Leaching Technique: In this simple method, a water soluble salt is combined with a biodegradable scaffold and an organic solvent and poured in the desired frame. After evaporation of solvent, salt particles are rinsed and a porous scaffold of desired shape is obtained (22).
- 2) Emulsion Freeze Drying: This method has been used for the fabrication of PLGA or poly (lactic-co-glycolic acid) scaffold with high porosity (>90%)(27). In this method, an emulsion of organic solvent, scaffold and water is cooled down quickly. Water and organic solvent are then extracted using Freeze Drying and a high porosity scaffold is obtained (22).
- 3) Gas-Foaming Process: In this method a highly porous scaffold is produced without using a solvent by increasing and decreasing the pressure of gas like CO<sub>2</sub> (22)
- 4) Electro-spinning: In this method an electrical charge is used to control the deposition of polymer fibers on a substrate. Eventually a polymer fiber scaffold of desired size is formed (22).

5) Thermally Induced Phase Separation: In this method, the scaffold is dissolved in the solvent at high temperatures. By reducing the temperature, separation of 2 phases of solid-liquid or liquid-liquid is done and a porous scaffold is obtained (22, 26).

6) Rapid-Prototyping Technique: In this method, designing and fabrication of the scaffold are done by computer software. Shape of defects determined using CT scan or MRI image and the computer commands the fabrication of scaffold with desired shape to the bioreactor (22,28). Bioreactor can load the cells and growth factor onto the scaffold simultaneous with its formation (29). Thus, a scaffold including cells and growth factor is obtained in the form of defect. The obtained scaffold has relatively low porosity and its mechanical properties need to be improved (30). However, this method can cause great advancements in the field of tissue engineering.

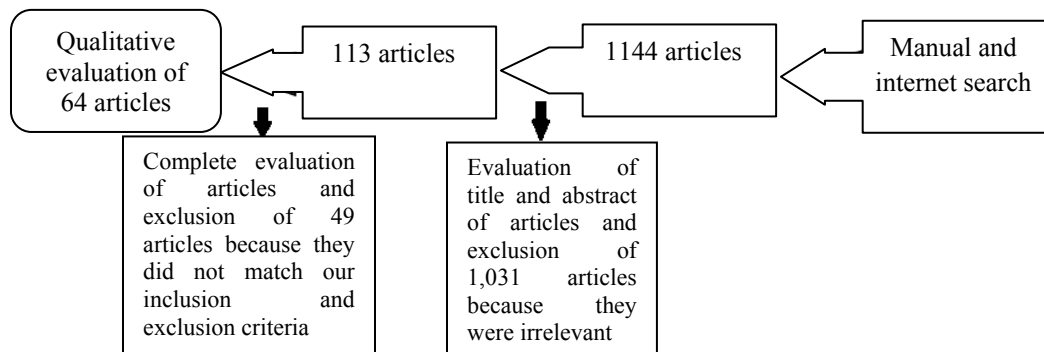
The present study aimed to discuss different types of scaffolds and their fabrication technique and review the scaffolds used for craniomaxillofacial bone reconstruction through the application of stem cells.

**Methods:**

A Pub-Med search was done using the key words “tissue engineering”, “bone regeneration”, “stem cell+ scaffold”, “oral surgery”, “scaffold”, “allograft” and “xenograft”. Manual search was done through selected journals published by February 2012. All articles evaluating reconstruction and repair of craniomaxillofacial bone defects in humans or animal models using a scaffold and stem cells were entered the study. Those assessing the reconstruction of bone defects due to infection, malignancy, systemic disease and osteonecrosis were excluded from the study.

**Results:**

Of a total of 1,144 articles found through searching the databases using key words and manual search in selected journals, 113 were chosen after reviewing their title and abstract. The full texts of these articles were reviewed and in the next phase, 64 articles that matched our inclusion and exclusion criteria were selected and evaluated qualitatively. The process of article selection is demonstrated in Figure 1.



**Figure 1- The process of article selection in this review study**

**Findings obtained from qualitative evaluation of articles:**

**Scaffolds for bone tissue engineering:**

Based on the obtained results, scaffolds used for bone tissue engineering are divided into 3 main

groups of natural, synthetic, and composite (31-34)(Table 1). Hydrogels are a group of scaffolds that are presently used and can have natural (collagen, hyaluronic acid, alginate, etc.) or synthetic (poly ethylene glycol, self-assembling peptides, etc.) origin (35).

**Table 1- Different scaffolds used for craniomaxillofacial bone tissue engineering**

Natural scaffolds		Synthetic scaffolds		Composite scaffolds	
Natural organic	Natural inorganic	Synthetic Polymer	Synthetic Ceramic		
Collagen Sponge	Silver	PLGA	Calcium Magnesium Phosphate Cement (CMPC)	nono-hydroxyapatite/collagen/PLLA	
PRP	Coral	PLG	$\beta$ TCP	Octacalcium phosphate/collagen	
Gelatin Sponge	Silk fibroin protein	PLLA	HA/TCP	Nano-hydroxyapatite/polyamide 6	
Gelatin Hydrogel	Prem mineralized silk fibroin protein	PGA	Flurohydroxyapatite	nono-hydroxyapatite/polyamide66	
PuraMatrix	ABB	PLA	Ca-deficient hydroxyapatite (CDHA)	hydroxyapatite-coated PLGA	
Alginate	Deer antler	PLA-PEG		HA/PLGA	
Partially demineralized bone matrix		fibronectin-coated PLA		$\beta$ TCP/Collagen	
Bio-Oss		PEG-DA		DBM/PLA	
Allograft		PEG-MMP		nano-hydroxyapatite/polyamide	
Fibrin Sealant		PVDC		OsteoSet	
Gelatin foam		polycaprolactone			octacalcium phosphate precipitated (OCP) alginate
Collagen gel					demineralized bone powders/PLA
hyaluronic acid-based hydrogel					apatite-coated PLGA

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

**Natural scaffolds:**

Natural scaffolds are derived from the materials present in the nature, human body, plants, insects, or animals. These scaffolds are either ceramic having a structure similar to natural bone because of having hydroxyapatite or a similar substance, or have a structure similar to bone organic matrix proteins such as collagen, osteopontin and osteonectin.

**Natural organic scaffolds:**

Organic scaffolds include platelet-rich plasma (PRP), collagen, gelatin, fibrin, alginate, Chitosan and demineralized natural bone (allograft). These materials usually provide a

natural substrate for adhesion, differentiation and proliferation of cells. However, this group of scaffolds usually has uncontrollable poor mechanical properties. Table 2 demonstrates natural organic scaffolds used in various studies conducted within the time period of the present review.

**Natural inorganic Scaffolds:**

natural Inorganic scaffolds possess suitable biocompatibility and osteoconductive properties because they are structurally similar to the mineralized tissues in the body. Table 3 summarizes the inorganic natural scaffolds used in various studies conducted during the present study period.

**Table 2- Natural organic scaffolds**

Authors	Year of Publication	Site & form of lesion	Type of stem cell	Type of scaffold	Growth factor	Result
Zou et al. (36)	2012	5mm calvaria	BMSCs modified	Gelatin Sponge	HIF-1 $\alpha$ gene	After 8 weeks, histological evaluation revealed 57.43% $\pm$ 0.21 bone formation and 9.6% $\pm$ 0.27angiogenesis
Yamada et al. (37)	2011	Posterior maxilla	BMSCs	PRP		After 3 months, radiography demonstrated 8.2 $\pm$ 1.6 mm increase in bone height
Yamada et al. (38)	2011	10*10mm mandible	BMSCs DPSCs DTSCs	PRP		After 8 weeks, histometric analysis demonstrated 54.7% $\pm$ 2.2, 16.6% $\pm$ 1.3% and 52.8 $\pm$ 3.5% new bone formation in pDTSCs/PRP, cDPSCs/PRP and cMSCs/PRP, respectively
Kohgo et al. (39)	2011	5mm mandible	BMSCs	PuraMatrix	PRP	After 8 weeks, histometric analysis demonstrated 55.64% bone formation around the implant
Ben-David et al. (40)	2011	5mm calvaria	BMSCs	Gelatin Hydrogel		After 8 weeks, $\mu$ CT showed 65% bone formation
Chang et al. (41)	2010	5*2mm Calvaria	BMSCs modified	Alginate $\gamma$ Collagen type 1	BMP2 gene	After 3 months, histological evaluation and CT scan showed almost complete repair of defect with spongy bone and MPa 81/112 in the collagen group and almost no new bone formation in the alginate group.
Cheung et al. (42)	2010	3.5 mm calvaria	ADSCs	Collagen Sponge		After 3 weeks, histological evaluation revealed a mean number of 34.7 vessels per mm <sup>3</sup> and osteogenesis at the defect margins
Liu et al. (43)	2010	5mm calvaria	UCBMSCs	partially demineralized bone matrix		After 12 weeks, $\mu$ CT showed almost complete repair of defect and formation of bone with a density approximately similar to that of natural bone
Kim et al. (44)	2010	5*5 mm calvaria	BMSCs	small intestine submucosa (SIS) sponge		After 4 weeks, histological evaluation demonstrated 46% new bone formation
d'Aquino et al. (45)	2009	15mm mandible	DPSCs	Collagen Sponge		After 3 months, clinical and radiographic assessments revealed more than 70% bone reconstruction
Arpornmaeklong et al. (46)	2009	5mm calvaria	ESCMSCs	Bio-Oss		After 6 weeks, histological examination revealed bone formation at the defect margins and formation of fibrous and granulation tissue at the center of defect.
Usas et al. (14)	2009	5mm calvaria	MDSCs modified	CG & FS & GS	BMP4 gene	After 6 weeks, $\mu$ CT showed the volume of newly formed bone to be 102.85 $\pm$ 51.4 mm <sup>3</sup> in repair with GS, 11.57 $\pm$ 0.6 mm <sup>3</sup> in repair with CG and 12.02 $\pm$ 6.2 mm <sup>3</sup> in repair with FS
Bohnenblust et al. (47)	2009	8mm calvaria	ADSCs	Allograft		After 6 weeks, mineral density of the newly formed bone was 1365 $\pm$ 160.4
Kim et al. (48)	2007	8mm calvaria	BMSCs	hyaluronic acid-based hydrogel	BMP2	After 4 weeks, histological evaluation showed mature bone formation and vascular factors were also traced.
Smiler et al. (49)	2007	Maxillary sinus floor & maxillary ridge	BMSCs	$\beta$ TCP, xenograft & resorbable algae		After 4 to 7 months, histomorphogenic analysis demonstrated 43% and 45% new bone formation in resorbable algae, 40%, 23% and 16% in $\beta$ TCP and 14% and 32% in xenograft, respectively.
Dudas et al. (19)	2006	8mm calvaria	ADSCs	gelatin foam	BMP2	After 6 weeks, quantitative radiographic assessment revealed repair of 65% of the defect.
Ito et al. (50)	2005	10mm mandible	BMSCs	PRP		Histologic evaluation demonstrated mature bone formation. After 2 weeks, Vickers hardness test yielded a value of 17
Lee et al. (51)	2001	5mm	MDSCs modified	Collagen sponge	BMP2 gene	Repair of 95-100% of defects after 4 weeks

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 – CG: Collagen gel, – FS: Fibrin Sealant – GS: Gelatin Sponge

**Table 3- Natural inorganic scaffolds**

Authors	Year of Publication	Site & form of lesion	Type of stem cell	Type of scaffold	Growth factor	Result
Ye et al. (52)	2011	4mm calvaria	iPSCs modified	silver	SATB2 gene	After 5 weeks, histometric analysis showed %59.58±7.00 new bone formation
Duan et al. (53)	2011	1.5*2mm periodontal	iPSCs	silver	Enamel Matrix Derivatives	After 24 days, histometric analysis revealed %58.53±2.67 new bone formation
Xiao et al. (54)	2010	12mm orbital wall	BMSCs modified	coral	BMP2 gene	After 24 weeks, histometric analysis demonstrated 74.63%±7.94 formation of a bony bridge
Zhang et al. (55)	2010	3mm calvaria	BMSCs modified	silk fibroin protein	BMP7 gene	After 4 weeks, histological evaluation demonstrated new bone formation at the margins and bony islands in the center of defect
Pieri et al. (56)	2010	8mm vertical calvaria	ADSCs	ABB		After 1 month, $\mu$ CT demonstrated 33.18%±3.92 new bone formation and 3.11±0.56 mm increase in height. Histometric analysis showed 47.96%±8.53 new bone formation
Lucaciu et al. (17)	2010	3mm Parietal	BMSCs	Deer antler		After 2 and 4 months, histological evaluation demonstrated bone formation of a good quality
Jiang et al. (13)	2009	5mm Ramus	BMSCs modified	Pre-mineralized silk fibroin protein	BMP2 gene	After 8 weeks, histometric analysis revealed 57.79±7.96% new bone formation
Cui et al. (57)	2007	20*20mm Parietal	ADSCs	coral		After 24 weeks, radiographic assessment revealed repair of 84.19%±6.45% of the defect
Hou et al. (58)	2007	15mm calvaria	BMSCs	coral	BMP2	After 16 weeks, radiographic assessment demonstrated formation of bone with 77.45% opacity
Al-Salihi (59)	2004	mandible	BMSCs	coral		After 3 months, histological assessment revealed mature bone formation with abundant blood vessels

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

**Synthetic scaffolds:**

Synthetic scaffolds are divided into 2 groups of polymer and ceramic.

**Synthetic polymer scaffolds:**

Synthetic polymer scaffolds used in different studies are derived from polylactic acids or poly glycolic acids. The main advantage of these scaffolds is the ability to fabricate several similar scaffolds and determining their mechanical and chemical properties. Also, growth factors can be incorporated into the biodegradable scaffolds in this group like PLA

or poly (D, L-lactic acid), PGA or poly (glycolic acid) and PLGA or poly (lactic-co-glycolic acid). Therefore, during the degradation of scaffold, these factors are gradually released. Table 4 presents the studies conducted on synthetic polymer scaffolds with the aim of repairing maxillofacial bone defects.

**Synthetic ceramic scaffolds:**

These scaffolds include synthetic hydroxyapatite (HA), Nano HA, Bioglass, Beta Tricalcium Phosphate ( $\beta$ TCP), and Calcium Phosphate (CaP). Studies conducted with these scaffolds are summarized in Table 5.

**Table 4- Synthetic polymer scaffolds**

Authors	Year of Publication	Site & form of lesion	Type of stem cell	Type of scaffold	Growth factor	Result
Songsong et al. (60)	2011	3*5mm Condyle	BMSCs modified	PLGA	NELL-1	After 24 weeks, $\mu$ CT demonstrated 60.7% $\pm$ 9.4% bone formation in the defect site
Hamajima et al. (61)	2011	5mm calvaria	BMSCs	PVDC		After 6 weeks, CT scan showed almost complete repair of defect
Wang et al. (62)	2010	7mm calvaria	BMSCs	PLGA	alendronate	After 12 weeks, radiographic assessment demonstrated 65% radio-opacity
Zong et al. (63)	2010	5mm calvaria	BMSCs	PLGA		After 20 weeks, histometric analysis revealed 53.9% $\pm$ 6.2% new bone formation
Terella et al. (64)	2010	8mm calvaria	BMSCs	PEG-DA, PEG-MMP	BMP2	After 8 weeks, $\mu$ CT showed 42% decrease in size of defect in the PEG-DA group and 77% decrease in the PEG-MMP group
Di Bella et al. (65)	2008	15mm calvaria	ADSCs	fibronectin-coated PLA		After 6 weeks, histometric analysis revealed 12.09% new bone formation and radiographic assessment revealed 30.60% radiopacity.
Liu et al. (66)	2007	6.5mm calvaria	BMSCs	PLG	BMP2	After 12 weeks, histometric analysis showed 78.8% new bone formation.
Ren et al. (67)	2007	5*12mm mandible	BMSCs	PLGA, PLLA & PLA-PEG		After 12 weeks, histometric analysis revealed 81.9% new bone formation in PLGA group and 72.7% in PLA-PEG group
Ren et al. (68)	2005	5*12mm mandible	BMSCs	PLGA		After 3 months, histological examination showed complete repair of the bone defect
Marei et al. (69)	2005	Mandibular central incisor socket	BMSCs	PLA/PGA		After 4 weeks, histological evaluation revealed bone formation with a density of 74.94% in the site
Schantz et al. (70)	2003	15mm calvaria	BMSCs	polycaprolactone		After 3 months, histological evaluation revealed newly formed bony islands and abundant blood vessels but the defect was not repaired completely.

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

**Table 5- Synthetic ceramic scaffolds**

Authors	Year of Publication	Site & form of lesion	Type of stem cell	Type of scaffold	Growth factor	Result
Zou et al. (71)	2011	5mm Calvaria	BMSCs modified	Calcium Magnesium Phosphate Cement (CMPC)	HIF-1 $\alpha$	After 8 weeks, histometric analysis showed 25.31% $\pm$ 5.16% new bone formation
Zhao et al. (72)	2010	5mm Mandible	BMSCs modified	$\beta$ TCP	BMP2 gene	After 8 weeks, histometric analysis showed 31.83 $\pm$ 5.35% new bone formation
Kim et al. (73)	2009	10*5mm Mandible	BMSCs & PLSCs	HA/TCP		After 16 weeks, histometric analysis showed 40.17% new bone formation in the BMSCs group and 36.51% new bone formation in PLSCs group around the implant
Zheng et al. (74)	2009	1.5*2.5*2.5mm Mandibular Symphysis	DTSCs	$\beta$ TCP		After 6 months, histometric analysis showed 83.1% new bone formation
Pieri et al. (75)	2009	3.5*8mm edentulous ridge	BMSCs	FAP		After 3 months, histometric analysis showed 45.28% new bone formation
Guo et al. (76)	2009	3*6*10mm mandible	BMSCs	Ca-deficient hydroxyapatite (CDHA)		After 8 weeks, histologicalevaluation showed complete repair of the defect
Jafarian et al. (77)	2008	10mm Mandibular alveolar ridge	BMSCs	HA/TCP & Bio-Oss		After 6 weeks, histometric analysis showed 65.78% and 36.84% bone formation in HA/TCP and Bio-Oss groups, respectively
Shayesteh et al. (78)	2008	Maxillary sinus floor	BMSCs	HA/TCP		After 3 months, histometric analysis revealed a mean of 41.34% bone formation
Khojasteh et al. (79)	2008	5mm Parietal	BMSCs	Bio-Oss & $\beta$ TCP		After 6 weeks, histometric analysis revealed 1.44 mm and 2.53 mm bone repair in the Bio-Oss and $\beta$ TCP groups, respectively
Pieri et al. (80)	2008	Maxillary sinus augmentation	BMSCs	FAP		After 3 months, histometric analysis showed 42.51% new bone formation

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 – FAP: Fluorohydroxyapatite

**Composite scaffolds:**

Composite scaffolds are a combination of polymer and ceramic scaffolds aiming at reducing each one's disadvantages. For example, when a biodegradable polymer like PLGA is combined with a bioactive material like CaP, the alkaline products derived from degradation of CaP can neutralize the acidic products derived from the degradation of PLGA. Also, these

scaffolds imitate the complex properties of natural bone. However, some composite scaffolds are made by the combination of natural and synthetic materials.

Various combinations like hydroxyapatite/ polyamide, hydroxyapatite/PLGA, Octacalcium Phosphate/Alginate, TCP/collagen and demineralized bone/PLA have been used in different studies (Table 6).

**Table 6- Composite scaffolds**

Authors	Year of Publication	Site & form of lesion	Type of stem cell	Type of scaffold	Growth factor	Result
Liu et al. (80)	2011	10mm Alveolus	DPSCs	nano-hydroxyapatite/collagen/PLLA	BMP2	After 12 weeks, histometric analysis showed 61.16%±2.18% new bone formation
Kawai et al. (81)	2011	9mm Calvaria	BMSCs	Octacalcium phosphate/collagen		After 8 weeks, histometric analysis demonstrated 44.1%±1.7% new bone formation
Khadka et al. (82)	2011	8mm Calvaria	BMSCs	Nano-hydroxyapatite/polyamide 6		After 8 weeks, histometric analysis showed more than 70% new bone formation
Qu et al. (83)	2011	8mm Calvaria	BMSCs modified	nano-hydroxyapatite/polyamide6	bFGF gene	After 4 weeks, density of microvessels was about 70% and after 12 weeks they had more than 80% new bone formation
Kwan et al. (84)	2011	4mm Parietal	ADSCs modified	hydroxyapatite-coated PLGA	FGF2 gene	After 20 weeks, $\mu$ CT showed almost complete repair of defect and formation of bone with more than 180 mg/cc mineral content
James et al. (85)	2011	4mm Calvaria	ADSCs	HA/PLGA		After 4 weeks, $\mu$ CT demonstrated 80% new bone formation
Tsumanuma et al. (86)	2011	5*5mm Periodontal	BMSCs PLSCs APSCs	$\beta$ TCP/Collagen		After 8 weeks, in all groups 70% new bone was formed but a higher amount of cement was formed when using PLSCs
Rhee et al. (87)	2011	8mm Calvaria	ADSCs	DBM and/or PLA		After 8 weeks, radiodensitometric analysis demonstrated 42.75% new bone formation in DBM/PLA+ADSCs group and 57.69% in DBM+ADSCs group
Li et al. (88)	2010	8*12mm Mandible	BMSCs modified	nano- HA /polyamide	BMP7 gene	After 8 weeks, histometric analysis showed 85.54%±2.07 new bone formation
Behnia et al. (18)	2009	Alveolar cleft	BMSCs	OsteoSet		After 4 months, CT scan showed 34.5% and 25.6% new bone formation
Fuji et al. (24)	2009	4.2mm Calvaria	BMSCs	octacalcium phosphate precipitated (OCP) alginate		Results demonstrated that OCP can enhance the adhesion of cells to the scaffold
Ko et al. (89)	2008		hMSCs	demineralized bone powders/PLA		After 12 weeks, histological assessment and $\mu$ CT showed almost complete repair of lesion and formation of bone with a density of 0.30 g/cm <sup>2</sup>
Wang et al. (90)	2007	8*12mm Mandible	BMSCs	nano- HA /polyamide		After 12 weeks, histological assessment showed more than 80% new bone formation
Cowan et al. (91)	2005	4mm Calvaria	BMSCs, ADSCs	apatite-coated PLGA	BMP2 & Retinoic acid	$\mu$ CT demonstrated new bone formation with 60-70% density after 2-4 weeks

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)



## Discussion:

Although the importance of cell-and growth factor-driven bone reconstruction strategies has been well documented, this study focused on scaffold-driven approaches.

The exact characteristics of scaffolds have been evaluated in several review articles (31-33). The scaffold of choice can be selected through evaluation of these scaffolds and comparing them with an ideal model. However, it should be noted that to date, no scaffold has been found to meet all the required criteria for an ideal scaffold. In order to ensure successful treatment of a bone defect, a scaffold should have at least 3 characteristics. Firstly, it should have correct anatomical geometry. Secondly, the scaffold should be able to endure mechanical loads present in the area especially if it has not undergone incubation in bioreactor and has been implanted directly in its respective location in the tissue. Last but not least, the scaffold should enhance the regeneration ability of growth factors.

### Natural scaffolds:

#### *Natural organic scaffolds:*

Review of literature reveals that out of 18 studies using natural scaffolds, 11 had used bone marrow stem cells (BMSCs). Other cells used in these studies with a lower frequency included dental pulp stem cells (cDPSCs) or puppy deciduous teeth stem cells (pDTSCs), adipose-derived stem cells (ADSCs), umbilical cord blood mesenchymal stem cells (UCB-MSCs), human embryonic stem cell-derived mesenchymal stromal cells (ESC-MSCs) or muscle-derived stem cells (MDSCs).

The animal models in these studies were mice, rats, dogs, Guinea pigs or rabbits. The highest number of studies has been conducted on rats. Three studies had been conducted on humans.

Size of bone defects created in understudy animal models was usually between 5 to 15mm and these defects were usually created in

calvaria and skull and occasionally in alveolar ridge, maxilla or mandible.

Of these 18 studies, in 4 a growth factor was used along with a scaffold. In 4 studies, cells were transfected with the growth factor. In other studies no growth factor was used and sometimes the type of scaffold used contained growth factors (like PRP).

Evaluation of the repair and filling of bone defects was usually done after 1 to 3 months using different methods. The more common procedures included histology, histomorphometry, and  $\mu$ CT tomography. Bone densitometry, spectroscopy, biomechanical tests and Vickers hardness test were also used. Some studies have used Immunohistochemistry and gene expression analysis in the laboratory phase.

Evaluation of outcome in these studies reveals that in the majority of them, concomitant use of scaffold, cells and growth factor or scaffold and cells yields better results compared to using cells or scaffold alone. In 2 studies however, no significant difference was detected between repair of defect after using scaffold and cells and repair without the graft material. The results of human studies have been satisfactory.

In some studies, a comparison was done between different natural scaffolds and results demonstrated that type I collagen yields better results compared to alginate. Also, comparison of repair of 5 mm bone defects in mice calvaria by using muscle-derived stem cells (MDSCs) transfected with BMP4 gene along with 3 types of scaffolds of collagen gel (CG), Fibrin sealant (FS) and Gelatin sponge (GS) demonstrated that defect repair with these 3 scaffolds is different in terms of volume, shape and morphology. Defects repaired with GS scaffold produced hypertrophic bone while CG and FS scaffolds resulted in formation of bone very similar to calvaria natural bone (14).

#### *Natural inorganic scaffolds*

Of a total of 10 studies using inorganic natural scaffolds, 6 used bone marrow stem cells (BMSCs). The remaining studies used adipose-

derived stem cells (ADSCs) and induced pluripotent stem cells (iPSCs).

Animal models used in these studies were mice, dogs, cows and rabbits. The highest number of studies was conducted on mice. To date, no human study has been performed using these scaffolds. Size of bone defects created in animal models was usually between 1.5 to 30 mm and these defects were usually created in calvaria, and sometimes in parietal bone, orbit, ramus, skull or mandible.

In 4 of these 10 studies, no growth factor was used. In another 4 studies, cells were transfected with the respective growth factor. In the remaining 2 studies, growth factors were used.

Evaluation of the repair of defects within 1 to 6 months after the intervention was done using histology, histomorphometry, micro CT and sometimes radiography. These studies also confirmed the synergistic effect of simultaneous use of scaffold, cells and growth factor or scaffold and cells.

### **Synthetic scaffolds:**

#### ***Synthetic polymer scaffolds:***

In these 11 studies bone marrow stem cells (BMSCs) were mainly used and only in one study adipose-derived stem cells (ADSCs) were employed.

The animal models used in these studies were goats, mice, and rabbits. The majority of studies were conducted on mice and rabbits. No human study has been conducted by using these scaffolds. Size of created defects was usually within 5 to 15 mm and these defects were often created in calvaria and sometimes in the skull, condyle, mandible or extracted tooth socket. In 7 of these 11 studies no growth factor was used.

Evaluation of the repair of bone defects was usually done within 1 to 6 months after intervention using methods similar to those used in previous studies.

In these studies chemical modifications of scaffolds were also noted. For example, comparison of the protease sensitive PEG matrix

metalloproteinases (PEG-MMP) scaffold with Poly (Ethylene Glycol)-Diacrylate(PEG-DA) scaffold revealed that PEG-DA even in presence of stem cells and growth factors inhibits bone formation (64). Additionally, use of fibronectin-coated polylactic acid (PLA) with adipose-derived mesenchymal cells (ADCs) for repair of rabbit skull defect demonstrated that fibronectin-coated PLA scaffold can efficiently enhance its effect on repair of such defects. Also it was shown that when stem cells are placed in an osteogenic environment before implantation, a higher percentage of new bone formation is achieved (65). Gradual release of growth factors by using these scaffolds has also been noted.

Comparison of 3 scaffolds of PLGA, PLLA and PLA-PEG revealed that PLGA had the greatest ability to enhance adhesion, proliferation and differentiation of cells and subsequent repair of bone defect (67).

Since 2003, use of rapid prototyping technique for fabrication of these scaffolds has been the focus of attention aiming at obtaining scaffolds with controlled geometry and optimal microscopic structure (70).

#### ***Synthetic ceramic scaffolds:***

These studies have been conducted on mice, rabbits, pigs, Guinea pigs, and dogs. One clinical study on human using these scaffolds has also been reported. In these studies, bone marrow stem cells (BMSCs) has been mainly used and only in one study deciduous teeth stem cells were employed.

The important point that needs to be considered when using this type of scaffolds is their porosity. Comparison of these scaffolds with Bio-Oss demonstrated their superiority. However, when compared with Bioglass no difference was detected.

### **Composite scaffolds:**

Studies performed on composite scaffolds used along with stem cells and growth factors have shown that compared to all groups even autogenous bone grafts, quicker and greater osteogenesis was observed inside the defect

when using these scaffolds.

Comparison of the efficacy of bone marrow stem cells (BMSCs), periodontal ligament stem cells (PLSCs) and alveolar periosteal stem cells (APSCs) used along with  $\beta$ TCP/collagen scaffold for repair of a 5 mm defect on a periodontal wall in a dog revealed that greater amounts of new cement, new periodontal fibers and alveolar bone were formed in the group where PLSCs along with  $\beta$ TCP/collagen scaffold had been used. Also, only in this group nerve filaments were observed in reconstructed PDL (86).

### Conclusion:

Based on the present study results, in the majority of reviewed articles BMSCs were used for bone reconstruction and they are still considered as the gold standard for bone tissue regeneration. Growth factor is one of the three elements of tissue engineering. However, it has been less frequently used in the mentioned studies and occasionally scaffolds that are a reservoir for growth factors have been used. Among growth factors, BMPs especially BMP2 have had the highest application. Additionally, PRP which has also been used as a scaffold contains osteoinductive proteins and can be used as a growth factor as well.

Among organic natural scaffolds, PRP and collagen sponge have been more frequently used compared to others and it seems that collagen sponge has had more satisfactory results. Coral and silver are the most frequently used organic natural scaffolds and the outcome of using corals has been better than that of silver.

Among the synthetic polymer scaffolds, PLGA has been the most commonly used yielding favorable results. Also, HA/TCP has been more successful than other synthetic ceramic scaffolds. Composite scaffolds are usually fabricated by combining hydroxyapatite and synthetic polymer scaffolds. Application of composite scaffolds for reconstruction of craniomaxillofacial defects has been less common than other scaffolds but has increased during the recent years.

In general, the best results were obtained when using coral scaffolds followed by composite scaffolds with more than 80% osteogenesis.

In order to achieve optimal results in bone tissue engineering, there are some factors that have to be considered by researchers including:

- 1- Clinical studies: To date, limited number of clinical studies has been conducted on humans and in each study sample size has been very small.
- 2- Animal model studies: These studies have mostly focused on reconstruction of small defects in small animals. In order to be able to generalize the results to human beings, larger animals with biological structures and immune systems similar to those of humans have to be studied.
- 3- Control groups: Appropriate selection of control groups can help in better interpretation of results and more clearly demonstrating the effect of each variable.
- 4- Time: Most studies have evaluated the outcome after a short time period. Follow up of samples for longer periods of time can better demonstrate the results and the possible side effects of materials used.
- 5- The tissue engineering triangle: In a small number of studies all 3 elements of tissue engineering have been used. It is important to know what factors are required to imitate natural healing and repair and be aware of the fact that these factors have to be gradually released into the environment.
- 6- Evaluation of results: There are various methods to present the study results; but, it should be noted that angiogenesis and immunologic reactions are among the most important factors in bone reconstruction and therefore have to be precisely evaluated. Also, presenting the qualitative results of osteogenesis can help for comparison with similar studies.

Although tissue engineering can theoretically have an application in dentistry, its clinical application has not gained popularity since it is not cost effective and has some considerations related to cellular manipulation. However, its perspective attracts dentists and researchers.

In this review study on the scaffolds used for reconstruction of craniomaxillofacial bone defects, it was revealed that there is still a long way till achieving an ideal treatment. Although scaffold has been proposed as the key factor in success of tissue engineering, after 20 years of tissue engineering introduction, an ideal scaffold has yet to be designed. Studies have been mostly performed on reconstruction of small defects and characteristics like angiogenesis and bone physiology have been less considered.

The future perspective of bone tissue engineering seems to include application of rapid prototyping technique for the fabrication of

a custom-made composite scaffold using patient's CT and MRI images along with the use of genetically modified stem cells.

### **Acknowledgments**

This study was conducted based on the literature review of the doctoral thesis of Saeed Reza Motamedian. The supervising and instructing professors were Dr. Arash Khojasteh and Dr. Fahimeh S. Tabatabaei from Shahid Beheshti University of Medical Sciences, School of Dentistry.

### **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. Lucaci 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. Huttmacher 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. Huttmacher 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 morphogenic 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.

## 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 می‌شود 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 (CO<sub>2</sub>) 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

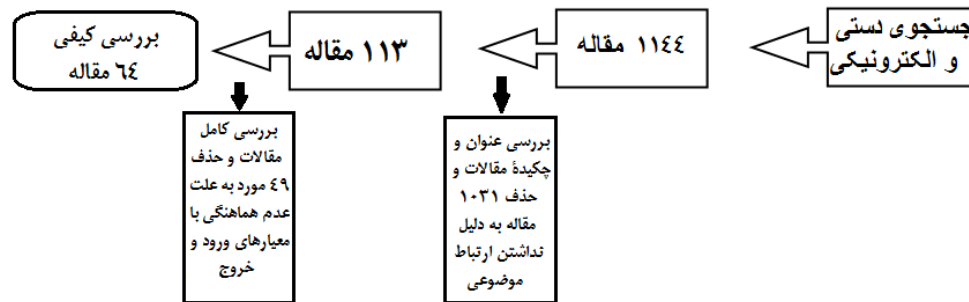
۳) دارای خواص Osteoconductive و Osteoinductive

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 (۲۲،۲۶). 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 (۲۲،۲۸). 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	$\beta$ 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	
$\beta$ 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 $\alpha$	پس از هشت هفته، بررسی هیستولوژی ۵۷/۴۳±۰/۲۱٪ ساخت استخوان و ۹/۶±۰/۲۷٪ تشکیل عروق را نشان داد.
Yamada et al. (۳۷)	۲۰۱۱	خلف ماگزایلا	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 ۵۴/۷±۲/۲٪ 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.	PRP	PuraMatrix	BMSCs	۵ میلی متری مندبیل	۲۰۱۱	Kohgo et al. (۳۹)
پس از هشت هفته، $\mu$ 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 <sup>2</sup> 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، $\mu$ 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، $\mu$ CT نشان داد که حجم استخوان ساخته شده در ترمیم با GS (102.85±51.4mm <sup>3</sup> ), CG (11.57±0.6mm <sup>3</sup> ), FS (12.02±6.2mm <sup>3</sup> ) 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 $\beta$ TCP، ۱۴٪ و ۳۲٪ در زنوگرفت بوده است.		$\beta$ TCP، زنوگرفت و resorbable algae	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 $59/58 \pm 7/00$ ٪ 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 $58/53 \pm 2/67$ ٪ 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 $74/63 \pm 7/94$ ٪ 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، $\mu$ CT ساخت $23/18 \pm 3/92$ ٪ استخوان و افزایش ارتفاع $3/11 \pm 0/56$ میلی متر و هیستومتری $47/96 \pm 8/52$ ٪ ساخت 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 $57/79 \pm 7/96$ ٪ استخوان جدید را نشان داد.
Cui et al. (۵۷)	۲۰۰۷	۲۰ میلی متری پریتال	ADSCs	مرجان		پس از ۲۴ هفته، رادیوگرافی ترمیم $84/19 \pm 6/45$ ٪ 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 $77/45$ ٪ 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، $\mu$ 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، $\mu$ 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	۵*۱۲ میلی متری مندیپیل	BMSCs	PLLA, PLGA, PLA-PEG و		پس از ۱۲ هفته، هیستومتری ساخت $81/9$ ٪ استخوان جدید در گروه حاوی PLA-PEG و $72/7$ ٪ در گروه حاوی PLA-PEG نشان داد.
Ren et al. (۶۸)	۲۰۰۵	۵*۱۲ 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( $\beta$ 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 $\alpha$	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	$\beta$ 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	$\beta$ 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	۳*۶*۱۰ 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	$\beta$ 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 $\beta$ 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  
 TCP/Collagen و demineralized bone /PLA 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، $\mu$ 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، $\mu$ CT نشان داد که تقریباً ۸۰٪ استخوان سازی صورت گرفته است.
Tsumanuma et al. (۸۶)	۲۰۱۱	۵*۵ میلیمتری پریودونتال	BMSCs PLSCs APSCs	$\beta$ 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 $\mu$ CT ترمیم تقریباً کامل ضایعه و ساخت استخوان با دانسیته $۰/۳۰ \text{ g/cm}^2$ 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	$\mu$ CT نشان داد که استخوان جدید با دانسیته ۶۰-۷۰٪ 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 هایپرتروفیک 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) diacrylate (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 صنعتی 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 پریدونتال (PLSCs) و آلوئولار پروست (APSCs) به همراه داربست  $\beta$ TCP/Collagen در ترمیم ضایعه پنج میلی‌متری یک دیواره پریدونتال سگ، نشان داده که در گروهی که PLSCs به همراه داربست  $\beta$ TCP/Collagen برای ترمیم استفاده شده بود، سمان جدید و الیاف پریدونتال 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، به شماره ۳۰۵۲ و 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, Huttmacher 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.