Archive of SID

مجله دندانپزشکی

دوره ۱۴
شماره ۳
پاییز ۱۳۸۱

مقاله علمی (تحقیقی)

بررسی اثرات کاربرد ماده بنیادی دمینرالیزه استخوان در ترمیم حفرهٔ آلوئولی موشهای دیابتیک نوع یک

دکتر فریده اعتصام*
شهریار احمدپور**
دکتر میرعباس عبدالوهابی***
دکتر علیقلی سبحانی****

چکیده

دیابت ملیتوس نوع یک (وابسته به انسولین IDDM) شایعترین ناهنجاری متابولیکی است که در طولانی مدت باعث بروز مشکلاتی در چشمها، کلیه‌ها، عروق خونی و اعصاب می‌شود. همچنین غشای پایه دستخوش تغییراتی می‌گردد که با میکروسکوپ الکترونی قابل رویت است. این بیماری دارای عوارض گوناگونی است که بیماران اغلب دچار آن می‌شوند و شامل چندین سندرم دیابتیک می‌باشد که از آن جمله می‌توان به جذب استخوان آلوئول و تاخیر در تشکیل استخوان اشاره کرد. از سویی دیگر با توجه به استفاده کلینیکی روز افزون از ماتریکس دمینرالیزه استخوان (DBM) قرار شد تا در مورد خواص استئواینداکشن بررسی بیشتری انجام گیرد. بر این اساس چهار گروه موش نر (به وزن صد و چهل تا دویست گرم و هرگروه پنج عدد) انتخاب گردید. گروه اول به عنوان شاهد و در گروههای دو و سه و چهار دیابت به وسیله آلوکسان ۵۲ میلی‌گرم /کیلوگرم ایجاد شد در این بین فقط

* ـ دانشیار گروه آموزشی آناتومی دانشکده پزشکی دانشگاه علوم پزشکی تهران.
** ـ دانشجوی کارشناسی ارشد علوم تشریحی دانشکده پزشکی دانشگاه علوم پزشکی تهران.
*** ـ استادیار و جراح گروه آموزشی آناتومی دانشکده پزشکی دانشگاه علوم پزشکی تهران.
**** ـ دانشیار گروه آموزشی آناتومی دانشکده پزشکی دانشگاه علوم پزشکی تهران.

www.SID.ir

Archive of SID

گروه چهار روزانه یک واحد انسولین NPH دریافت می‌کردند. ده روز بعد با استفاده از وسائل دندانپزشکی دندان راست فوقانی موشها کشیده شد و در گروه سه و چهار از DBM در داخل ساکت استفاده گردید. در پایان هفته‌های اول و دوم، سوم و چهارم حیوانات ذبح شدند و پس از آماده‌سازی نمونه‌ها با هماتوکسیلین و آئوزین اقدام به رنگ‌آمیزی و سپس از نمونه عکس گرفته شد، نتایج حاصل از مطالعهٔ مقاطع بافتی نشان داد. که ترمیم استخوان در گروه چهار نسبت به گروههای دیگر بهتر بوده است و به نظر می‌رسد DBM دارای خواص استئوایندا کتیو بوده و دودمان سلول‌های استخوانی (Osteoprogenitor) را تحریک کرده تا به استئوبلاست تبدیل شوند و ماتریکس استخوان ترشح نمایند.

کلید واژه‌ها: دیابت نوع یک ـ DBM ـ آلوکسان

مقدمه

دیابت شیرین نوعی هنجاری مزمن است که متابولیسم کربوهیدرات، چربی، پروتئین را تحت تأثیر قرار می‌دهد(۱). دیابت شیرین به دلیل نقص ترشح انسولین یا عملکرد انسولین یا هر دو می‌باشد و برجسته‌ترین تظاهر آن افزایش قند خون است(۲).

دیابت شیرین دارای عوارض مزمن همچون نفروپاتی، نوروپاتی، رتینوپاتی و عوارض قلبی عروقی است که گریبانگیر این بیماران می‌شود(۳).

علاوه بر موارد ذکر شده بیماریهای پریودنتال از شدت بالایی برخوردار است. همچنین از دست دادن دندان، تحلیل استخوان آلوئول، تأخیر در ترمیم و بهبود زخم و عفونت از دیگر مشکلات دیابت شیرین می‌باشد(۴).

امروزه نشان داده شده که انسولین در ترمیم بافت استخوانی و ترمیم سلول یک عامل مهم به شمار می‌رود و کاهش آن با افت عملکرد و تعداد سلول‌های استخوانی همراه است(۵).

با توجه به کافی نبودن ذخیره سلولی استخوان و تحلیل استخوان آلوئول و عفونتهای حاصل از جراحات وارده از یک جراحی ساده تا ترمیم صدمات کرانیوفاشیال، اهمیت تسریع در فرآیند بهبود و ترمیم جراحات را آشکار می‌سازد(۵، ۴).

در حال حاضر در جراحیهای پریودنتال اعم از بازسازی بافت استخوانی یا پریودنشیوم از مواد گوناگونی استفاده می‌شود که از آن جمله می‌توان به آلوگرافت‌های استخوانی غیر معدنی شده اشاره کرد. ماده بنیادی غیر معدنی شده (DBM) به دلیل دارا بودن زیر گروههای پروتئین‌های مورفوژن استخوان (BMP) و آماده‌سازی آسان و قابلیت نگهداری طولانی یک ماده ایده‌آل

www.SID.ir

Archive of SID

جهت گرافت استخوان است که در موارد عفونت نئوپلاسم و ترومامورد استفاده قرار می‌گیرد(۶).

Reddi جهت ارتقای استخوان سازی از پودر استخوانی بدون مواد معدنی Demineralized bone powder استفاده کرد و نتایج مثبتی را ارائه نمود(۷).

Chong در سال ۱۹۹۸ با استفاده از ایمپلنت DBM خشک منجمد شده در قسمت سوپرا آلوئولار دندانهای پره‌مولار دوم، سوم و چهارم سگ به مطالعه ترمیم آلوئول، سمنتوم و PDL پرداخت. نتایج حاصل در این بررسی نشان داد که اثرات DBM در مورد استخوان آلوئول غیرقابل پیش‌بینی است بدین صورت که در بعضی از موارد ترمیم صورت گرفته بود و در بعضی تغییری مشاهده نشد(۸).

Zhong و همکارانش با ایمپلنت DBM در عضله پشتی موش به مقادیر ده، بیست، سی و چهل میلی‌گرم به مدت چهار هفته بدین ترتیب که در پایان هفته اول، دوم، سوم، چهارم، ایمپلنت‌ها را خارج کردند (Explanted). مشاهدات بدین نحو بود که در پایان هفته اول فقط کندروبلاست و در پایان هفته دوم کندروبلاست و کندروبلاست‌های هیپرتروفیک و در انتهای هفته سوم مهمترین نمای هیستولوژیک استخوان نابالغ بود و در پایان هفته چهارم استئوبلاست و استئوسیت تمایز نیافته (Pre osteoblast) مشاهده شد(۹).

Wang در سال ۱۹۹۹ با ایجاد نقص کرانیال در موشهای نر و با استفاده از ایمپلنت DBM نشان داد که سلول‌های اطراف بافت زیرجلدی ناحیه آزرده تحریک می‌شوند و تکثیر و تمایز پیدا کرده و به استئوبلاست تبدیل می‌گردند. به عقیده Wang این ماده (DBM) توانایی ترمیم کامل نقص استخوانی ایجاد شده را دارا می‌باشد(۱۰). استفاده وسیع از DBM توسط محققان و مقایسه نتایج ترمیمی این ماده نشان دهنده جایگاه علمی و کاربردی DBM در ترمیم نقایص استخوانی است.

علی‌رغم تحقیقات وسیع در مورد DBM گزارشی از بررسی قدرت القای استخوان‌سازی آن در موارد دیابتیک در دست نیست. تحقیق حاضر در راستای بررسی اثرات کاربرد DBM در ترمیم نقص استخوانی حاصل از کشیدن دندان در موشهای دیابتیک نوع یک انجام گرفت.

روش بررسی

نود سر موش بالغ نر به وزن صد و چهل تا دویست گرم هشت هفته‌ای از مؤسسه رازی حصارک

www.SID.ir

Archive of SID

تهیه گردید. ده سر از این موشها به طور تصادفی جهت تهیه DBM و مابقی جهت تحمل کشیدن دندان به چهار گروه به شرح زیر تقسیم شدند: (هر گروه پنج عدد)

۱ـ گروه سالم: هیچ ماده‌ای پس از کشیدن دندان دریافت نکردند.

۲ـ گروه دیابتیک: هیچ ماده‌ای پس از کشیدن دندان دریافت نکردند.

۳ـ گروه دیابتیک که فقط DBM دریافت کردند.

۴ـ گروه دیابتیک که DBM و انسولین (NPH) دریافت کردند.

القای دیابت: با استفاده از تزریق داخل وریدی (وریدهای دمی) آلوکسان مونوهیدرات ۵۲ میلی‌گرم بر کیلوگرم دیابت القا گردید. آلوکسان بعداز چهار ساعت تقریباً تمامی سلول‌های B پانکراس را از بین می‌برد(۱۱). روز پنجم بعد از القای دیابت آزمایش قند خون موشهای دیابتیک از هفت میلی‌مول قبل از تزریق به ۱۳ میلی‌مول دویست میلی گرم در صد سی‌سی افزایش نشان داد.

طرز تهیه DBM

جهت تهیه DBM از روش Reddi(۷) استفاده شد، بدین صورت که پس از کشتن ده سر موش نر به وزن دویست و پنجاه گرم با کلروفرم استنشاقی بیهوش و محل برداشت استخوانهای بلند با بتادین و الکل پاک گردید و استخوانهای بلند فمور و تیبیا جدا شد. سپس انتهای استخوانها را بریده، تنه استخوانها در آب مقطر سرد قرار داده شد و با استفاده از یک سرنگ و برس حفره مرکزی و سطح استخوان پاک گردید. سایر مراحل به شرح زیر انجام شد:

۱ـ قرار دادن قطعات استخوانی در محلول اتانول مطلق به مدت یک ساعت

۲ـ بلافاصله پس از در آوردن از محلول اول به داخل محلول دی‌اتیل اتر به مدت نیم ساعت قرار گرفت.

۳ـ به مدت یک شب در دمای ۳۷ درجه در اتوکلاو قرار داده شد.

۴ـ با استفاده از یک هاون چینی استریل، استخوانها پودر گردید.

۵ـ دمینرالیزاسیون با HCL نیم نرمال به مدت سه ساعت انجام شد.

۶ـ شستشو دادن با آب به مدت دو ساعت به طول انجامید.

۷ـ قرار دادن در محلول اتانول مطلق به مدت یک ساعت مرحله بعدی بود.

www.SID.ir

Archive of SID

۸ـ قرار دادن در محلول دی‌اتیل اتر به مدت نیم ساعت انجام شد.

۹ـ قرار دادن در اتوکلاو به مدت یک شب در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد صورت گرفت.

DBM به دست آمده به این روش در دمای دو تا چهار درجه سانتی‌گراد نگهداری شد.

روش جراحی

در روز دهم بعد از ایجاد دیابت، حیوانات با استفاده از اتر استنشاقی و تزریق داخل پریتونئال کتامین و کلرورومازین بیهوش شدند(۱۳). با استفاده از پنبه و بتادیین محل عمل ضد عفونی گردید و با الکل شستشو داده شد. جهت جلوگیری از آسپیراسیون خون و سایر مواد حین کشیدن دندان یک تامپون در حلق حیوان قرار گرفت و با اسکاپل شماره سه و تیغ بیستوری اتصالات دندان راست فوقانی پیشین آزاد گردید و با یک ابزار مناسب دندانپزشکی دندان خارج شد. در گروه سه و چهار حفره با استفاده از DBM آغشته به سالین پر گردید و موضع عمل را با نخ بخیه پنج صفر بخیه شد. گروه چهار، یک واحد انسولین NPH روزانه دریافت می‌کردند. در گروه یک و دو پس از کشیدن دندان فقط محل با نخ پنج صفر بخیه شد. حیوانات پس از عمل یک واحد آنتی‌بیوتیک از نوع پنتابیوتیک و ترناریو به میزان دو میلی‌گرم دریافت نمودند. هر دو حیوان در یک قفس تمیز نگهداری شدند. در پایان هفته اول، دوم، سوم و چهارم حیوانات را ذبح و پس از طی مراحل بافتی اعم از دکلیسیفیکاسیون و آماده‌سازی بافتی با رنگ‌آمیزی H&E رنگ‌آمیزی شدند.

یافته‌ها

در گروه چهار پس از پایان هفته اول، التهاب و افزایش سلول‌های دفاعی و فعالیت استئوبلاستیک، تشکیل ترابکول‌های استخوانی در مجاورت DBM و الیاف کلاژن مشاهده گردید. استخوان سازی از هفته اول شروع شده بود و در طی هفته دو، سه و چهار ترابکول‌های ضخیمتری مشاهده گردید (۲-۱). در گروه سه، DBM در مراحل اولیه ایجاد آماس کرد و اثر القایی استخوان‌سازی محدود به اطراف ذرات DBM بود. در اثر فعالیت استئوکلاست و ماکروفاژها برای تخریب DBM، استخوان سازی به طور محدود صورت گرفته بود.

در گروه دو در پایان هفته اول، خونریزی وسیع و هماتوم و نقص در استخوان مشاهده

www.SID.ir

Archive of SID

گردید. فعالیت استخوان‌سازی بسیار ضعیف و از هفته دوم به بعد (روز ۱۴) به طور محدود مشاهده شد، همچنین ارتشاح سلولی مزمن مشاهده گردید که تا هفته سوم و چهارم ادامه داشت در پایان هفته سه و چهار استخوان‌سازی پیشرفت چندانی نداشت (۶، ۵).

گروه ۱: استخوان سازی به طور مختصر در پایان هفته اول در ثلث فوقانی قابل رؤیت بود و تغییر شکل سلولی در لبه‌های بافت همبند ساکت دندانی دیده می‌شد. استخوان‌سازی در هفته دوم به طرف هفته چهارم پیشرفت کرده بود ولی این روند (پر کردن کامل حفره) در هفته چهارم نیز کامل نشده بود (۸، ۷).

شکل ۱ـ مقطع بافتی از حفره آلوئولی گروه چهارم هفته اول

۱ـ DBM ۲ـ استئوبلاست ۳ـ استخوان در حال تشکیل

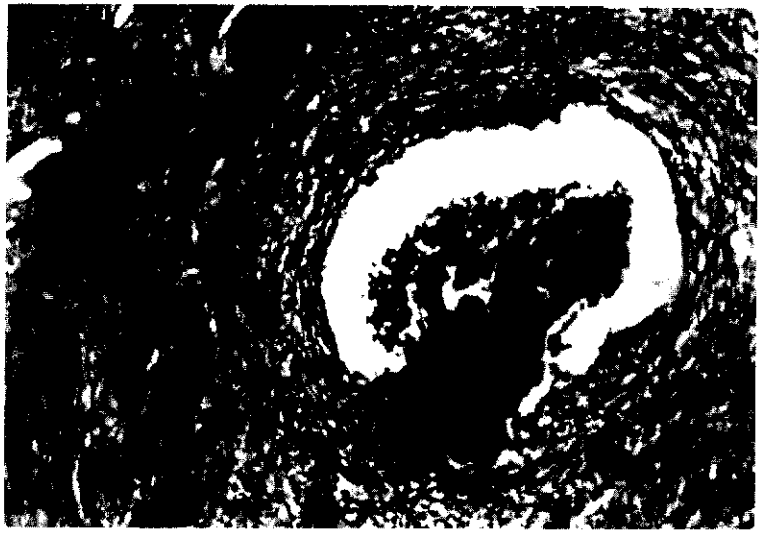
۴ـ کلاژن رنگ‌آمیزی هماتوکسیلین و آئوزین دویست و پنجاه

www.SID.ir

Archive of SID

شکل ۲ـ مقطع از استخوان ترابکولار گروه چهارم

۱ـ ترابکول شکل گرفته ۲ـ استئوبلاست ۳ـ استئوسیت رنگ‌آمیزی هماتوکسیلین و آئوزین ۶۳



شکل ۳ـ مقطع بافتی ساکت آلونولی گروه سوم

۱ـ DBM ۲ـ ارتشاح سلولی ۳ـ ترابکول‌های استخوانی در حال شکل‌گیری

رنگ‌آمیزی هماتوکسیلین و آئوزین ۶۳×

www.SID.ir

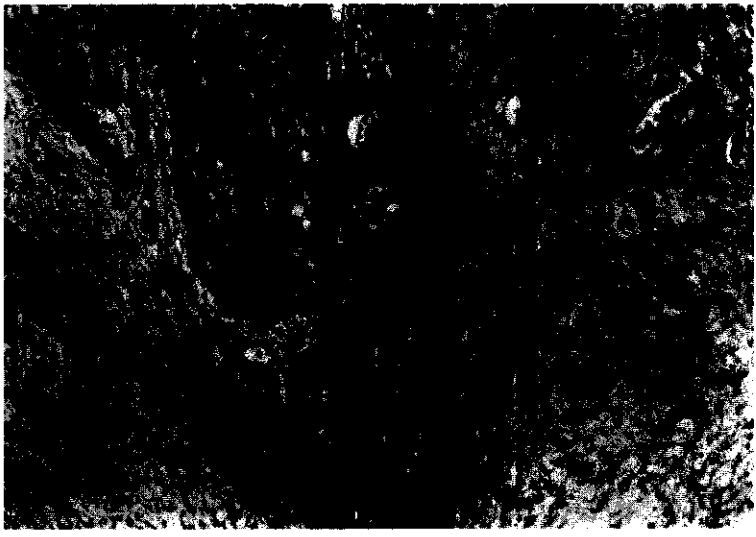
Archive of SID

شکل ۴ـ مقطع بافتی از ساکت آلونولی به همراه DBM گروه سوم
۱ـ DBM بدون تغییر ۲ـ ارتشاح سلولی ۳ـ سلول‌های استئوبلاست ۴ـ استخوان شکل گرفته
رنگ آمیزی هماتوکسیلین و ائوزین ۲۵×

شکل ۵ـ مقطع بافتی از ساکت آلونولی گروه دوم هفته اول
۱ـ استخوان ۲ـ بافت همبند ۳ـ هماتوم رنگ آمیزی هماتوکسیلین و آئوزین ۱۰۰×

www.SID.ir

Archive of SID



شکل ٦ ـ مقطع بافتی از استخوان شکل گرفته در ساکت آلوئولی گروه دوم

۱ـ بافت همبند ۲ـ استئوبلاست ۳ـ استئوسیت ۴ـ عروق رنگ آمیزی هماتوکسیلین و آئوزین ٦۳×

شکل ۷ ـ مقطع بافتی از ساکت دندانی گروه اول

۱ـ بقایای عاج ۲ـ بافت همبندی ۳ـ کانال دندانی خارج شده رنگ آمیزی هماتوکسیلین و آئوزین ۲۵×

www.SID.ir

Archive of SID

شکل ۸ـ مقطع بافتی از ترابکول استخوانی ساکت دندانی گروه اول هفته سوم
استئوبلاست ۲ـ استخوان تشکیل شده - ۳ عروق ۴ـ بافت همبند رنگ‌آمیزی هماتوکسیلین و آئوزین ۶۳×

بحث

با توجه به اینکه کشیدن دندان نوعی جراحت است و شکستگیهای بسیار ریز در استخوان آلوئول را به همراه دارد وقایع ترمیمی استخوان در این مورد صدق می‌کند.

در گروه شاهد التهاب جزئی در ساکت و بافت اطراف دیده شد. استخوان‌سازی در هفته دوم به بعد با فعالیت بیشتری ادامه یافته است. و از هفته چهارم نیز فراتر رفته، سلول‌های استئوبلاست از محیط به مرکز حفره هجوم آورده و استخوان سازی نیز به همین ترتیب از محیط به مرکز بود. در این رابطه Carvalho و همکارانش در مطالعه‌ای به بررسی روند ترمیم جراحت حاصل از کشیدن دندان پرداختند، Carvalho نشان دادکه در پایان هفته اول ترابکول‌های ظریف قابل تشخیص هستند ولی زمان کامل شدن ترمیم از هفته چهارم نیز فراتر می‌رود و تاهفته ششم ادامه خواهد داشت.(۱۳)

در گروه دوم (دیابتیک بدون هیچ درمانی) در پایان هفته اول خونریزی و هماتوم وسیع و التهاب دیده و استخوان‌سازی پس از گذشت روزهای ۲۱ و ۲۸ بسیار ضعیف بود، نمای غالب

www.SID.ir

Archive of SID

هیستولوژیک این گروه ملتهب بود. به نظر می‌رسد عدم درمان با انسولین روند التهاب پس از جراحت را طولانی کرده است و فعالیت استخوان‌سازی به شدت تحت تأثیر فقدان انسولین دستخوش تغییر شده است. در این رابطه در سال ۱۹۹۱، Crandini در مطالعه‌ای که بر روی سنتز پروتئین در موشهای دیابتیک نوع یک پس از کشیدن دندان انجام داد، نشان داد که پس از گذشت دو هفته بافت جدید که در حفره آلوئول شکل گرفته است از نوع التهابی و گرانوله است و استخوان سازی بسیار جزئی است(۱۴). در گروه سه ترابکول‌های ظریف در اطراف DBM مشاهده و ارتشاح سلولی واضح بود، به نظر می‌رسد DBM نتوانسته است اثر استئواینداکشن را در مناطق دورتر داشته باشد. Freankel و همکارانش از ماتریکس دمینرالیزه استخوان جهت درمان در Spinal fusion استفاده کردند و نشان دادند که این ماده قادر به استخوان سازی است و بیشترین استخوان جدید در محلهایی بوده که DBM در تماس با استخوان میزبان بوده است(۱۵). Pinholt و همکارانش در سال ۱۹۹۴ پس از جایگذاری DBM در حفرهٔ آلوئول سگ و گذشت شش هفته نشان داد که این ذرات تغییری نکرده‌اند و نتوانسته است روند استخوان سازی را القا نماید(۱۶). با توجه به گزارشات این دو محقق و در نظر گرفتن دیابت درمان نشده به نظر می‌رسد که DBM توانسته هر چند جزیی تحریکاتی را ایجاد نماید ولی به دلیل شدت التهاب نتوانسته است اثرات استئواینداکشن را در کل حفره القا نماید.

در گروه چهار که تحت درمان انسولین NPH روزانه یک واحد بودند به نظر می‌رسد که در پایان هفته اول DBM توسط سلول‌های استخوان ساز و ذرات کلاژن محاصره شده و استخوان‌سازی شکل گرفته است که در هفته‌های دوم الی چهارم استخوان سازی پیشرفت چشمگیری داشته است، همچنین در نواحی اطراف DBM فعالیت استئوبلاستیک مشهود بود. تشخیص ذرات DBM از هفته سوم به بعد مشکل است زیرا توسط استخوان شکل گرفته در اطراف کاملا محصور می‌شوند. به طور کلی تمایز سلولی در این گروه از استئوپروژنتیور به استئوبلاست کاملا مشهود بود.

در همین رابطه Wang پس از ایمپلنت DBM در نقص کرانیال ایجاد شده نشان داد که شش روز پس از ایمپلنت سلول‌های اتئوبلاست و استئوسیت را می‌توان در محل ایمپلنت مشاهده کرد(۱۰). با توجه به نقش محوری انسولین در کنترل متابولیسم و رشد سلولی و شرایط مساعد از قبیل PH (قلیایی) و کلاژن و وجود گروههای هیدروکسیل پروتئینی به نظر می‌رسد در

www.SID.ir

Archive of SID

گروه چهار به علت درمان توام، انسولین و اثرات استئواینداکشن DBM استخوان سازی از شدت و قدرت بیشتری نسبت به سه گروه قبلی وجود داشته است.

با توجه به نتیجه این تحقیق و نتایج سایر محققان می‌توان با دید بهتر و امیدوار کننده‌تری چشم به تحقیقات آینده در این زمینه داشت.

نتیجه بدست آمده از این تحقیق نشان می‌دهد چنانچه بتوان DBM را در بیماران دیابتیک همراه انسولین جهت ترمیم استخوان در جراحیهای ارتوپدی و کرانیوفاشیال استفاده کرد نتایج ترمیمی بهتری حاصل می‌شود.

* * *

www.SID.ir

Archive of SID

REFERENCES

۱- رابینز، ویلیام. آسیب‌شناسی رابینز. مترجمان. فتوتی، عباس؛ دیانتی، بهفر؛ حاج علی محمدی، بهزاد؛ حسن راد، بهزاد. تهران: نشر حیات؛ ۱۹۹۱، ۴۵۰-۴۳۹.

2- L. Mc Cane Kathryn, Ehuether sue. Pathophysioloy, 3 rd ed.[S.L]: Mosby; 1998, 653-680.

3- H. Beer Merk, Berkow R. The merk manual of diagnosis and therpah, 17 nd ed. [S.L]: Merk research lab; 1999, (1): 165.

4- Carranza F A, Newman G. Clinical Periodontology, 8 th ed.[S.L]: WB. Saunders Com; 1996, 190-194, 622.

۵- هارپر، ویلیام. بیوشیمی هارپر، چاپ ۲۳. ترجمه کریم زاده، حمیدرضا؛ افتخاری، علیرضا؛ ابطحی، مهدی. تهران: انتشارات شهرآب؛ ۱۹۹۳، فصل ۵۲.

6- Lynch Samuel, Genco E, Robert J, Marx Robert E. Tissue engineering: [S.L]: Quintessence Pub Co; 1999, 90-121.

7- Reddi AH, HuGGinZ. Biochemical sequence in the transformation of normal fibroblasts in adolscent Rat. Pro Nat Acad 1974; 1001-1605.

8- Kwan kim Chong Sung Cho Kyoo, Ho Choi Sung, Prewett Anamari. Periodontal repair in dog: effect of allogenic freezedried deminera lized bone matrix implantation on alveolar bone and cementum regener ation. J periodontol 1988; 69: 26-23.

9- Xhong Min, MPowers Ralph, Wolfin Briger LIYod. A quantative assessment of osteo inductivit of human demineralized bone matvix.J periodontol 1977; 1076-1084.

10-Wang j,G Lim Cher Mj. Characterization of matrix - induced osteogenesis in Rat calvarial bone defect. Cacif Tissue Int 1999; 64:486-493.

www.SID.ir

Archive of SID

11 Hatano H, Tokunagak, Ogose A, Hotta T, Xamagiva H. Origin of bone forming cells in human osteosarcomas transplanted in to nude mice-which cells produce bone, human or mouse? J pathol 1988; 185 (2): 204-11.

12-Bostrom M, Joseph M.Use of morphogeni protein 2 in the rabbit ulnar nonunion model. Clin Orthop Rel Res 1996; 327:272-82.

13-Lamno. Carualho, Tresa Lucia, BomBonato, Karina Fittipaldi, Brentegani Luiz guilherme. Histometric analysis of rat alveolar wound healing. Braz Den J 1997; 8(1): 9-12.

14-Grandini Sylvestre Arnaldo, Brentegani Luiz Guilem, Novaes Arthur Belem, MIGLIORINI Renato Helios. [S.T][S.D];[S.Vol][S.No.]:[S.P].

15-Frenke ISR, Moskovich R, Spivak j, Zhang Zh. Prewett deminrealized bone matrix implantation. Int J Oral Maxillofac Implants 1988; 70: 625-627.

16-Pinholt EM. Hannaes HRr, Roervik M, Donath, Bang G. Titanium implant insertion to dog alveolar ridges augmented by allogenic material. Clin Oral Imp Res 1994; 5:213-219.

www.SID.ir