Archive of SID

بررسی اثر القاء استخوان سازی ترکیبات Statin در rat

دکتر بهزاد هوشمند* •، دکتر بهنام اسلامی**، دکتر شهره عموئی***
* استادیار بخش پریودنتولوژي دانشکده دندانپزشکي همدان
** دانشیار بخش پاتولوژي دانشکده دندانپزشکي شهیدبهشتي تهران
*** دندانپزشك عمومي

تاریخ ارائه مقاله : ۸۴/۶/۲۲ – تاریخ پذیرش : ۸۴/۱۰/۱۶

Title: Assessment of osteoinduction by statins in rat

Authors:
Hushmand B. Assistant Professor•*, Eslami B. Associate Professor**, Amooie Sh. Dentist
Address:
* Dept of Periodontology, School of Dentistry, Hamedan University of Medical Sciences, Hamedan, Iran.
** Dept of Pathology, School of Dentistry, Tehran University of Medical Sciences, Tehran, Iran.

Introduction:
To date, studies about the systemic effects of statins on bone tissue have led to different resuts. The aim of this study was to assess the osteoinductivity by statins when injected intramuscularly or subcutaneously in rats.
Materials & Methods:
In this experimental study, 68 injections of Simvastatin, Lovastatin, Atorvastatin in polyethyleneglycole with 1mg/ml and polyethyleneglycole 300 were injected either S.C in rat`s backs or I.M into their hand and foot. After 6 weeks, the rats were killed and samples of the injection areas were provided and were studied under a microscope.
Results:
In two of the samples, few bony areas were seen which were a mixture of lamellar and woven bone. Around these areas' an osteoblastic rim was visible. In another sample, a chondral area with an active mesanchimal connective tissue which was in a differentiation state to become cartilage, was seen.
Conclusion:
Finding of this study and the gradual differentiation of muscular tissue to bony stem tissue in around samples, confirms the probable osteoinductivity effect of theses compound. To confirm further we propose that this effect should be investigated on stem cell cultures, in vitro.

Key words:
Rat, osteoinduction, Simvastatin, Lovastatin, Atorvastatin.

• **Corresponding Author: behzadhoushmand@yahoo.com**

Journal of Dentistry. Mashhad University of Medical Sciences, 2006; 29: 287-294.

چکیده

مقدمه:
مطالعاتی که تاکنون در رابطه با تاثیر مصرف سیستمیک ترکیبات استاتین بر روی بافت استخوانی انجام شده، نتایج ثابت و یکسانی را به دنبال نداشته است. لذا بر آن شدیم با توجه به تاثیری که این ترکیبات بر روی بافت استخوانی دارند، اثر القاء استخوان سازی این ترکیبات را در نواحی که به طور طبیعی استخوان وجود ندارد مثل عضله و بافت زیر پوستی، در موش صحرایی ارزیابی کنیم.
مواد و روش ها:
نوع تحقیق تجربی با تکنیک مشاهده‌ای می‌باشد. در این تحقیق مجموعاً ۶۸ تزریق از ترکیبات محلول Atorvastatin، Lovastatin، Simvastatin به غلظت ۱ mg/ml در پلی‌اتیلن‌گلیگول ۳۰۰، در زیر پوست ناحیه پشتی و در عضلات دست و پای موش صحرایی تزریق گردید. بعد از گذشت ۶ هفته موش ها کشته شده و از نواحی تزریق شده، نمونه تهیه شد. سپس مقاطع در زیر میکروسکوپ مورد بررسی قرار گرفتند.

• مولف مسؤول، آدرس : همدان دانشکده دندانپزشکي، بخش پریودنتیکس، تلفن ۴۲۲۰۹۲۱ - ۰۸۱۱

www.SID.ir

Archive of SID

یافته‌ها:

در دو نمونه کانون های استخوانی به صورت مخلوطی از استخوان لاملار و woven دیده شد که اطراف این کانونها ریم استئوبلاستی فعال نیز قابل رویت بود. در یک نمونه دیگر کانونی از بافت غضروفی دیده شد که اطراف آن بافت همبندی مزانشیمال فعال، در حال تمایز به غضروف دیده می‌شد.

نتیجه‌گیری:

یافته‌های این تحقیق و تمایز تدریجی بافت عضلانی به بافت Stem استخوانی در اطراف نمونه‌ها، تایید کننده احتمال اثر القاء استخوان سازی این ترکیبات می‌باشد ولی جهت تایید بیشتر، پیشنهاد می‌شود این اثر در مطالعات دیگر نیز به ارزیابی گذاشته شود.

واژه‌های کلیدی:

موش صحرایی، القاء استخوان سازی، سیمواستاتین، لوواستاتین، آترواستاتین.

مجله دانشکده دندانپزشکی دانشگاه علوم پزشکی مشهد / سال ۱۳۸۴ جلد ۲۹ / شماره ۳و۴

مقدمه:

تحلیل استخوان آلوئول در پی فرآیندهای مختلفی (به عنوان مثال بیماریهای پریودنتال، از دست رفتن دندان، ترومای ناشی از جراحی استخوان یا تهیه حفره برای ایمپلنت....) رخ می‌دهد. بازسازی و ترمیم استخوان از دست رفته در انسان، خواه ناشی از علل فیزیولوژیک و خواه به سبب عوامل پاتولوژیک، یکی از انگیزه‌های جراحان از زمانهای دور بوده است. آنان پیوسته در جستجوی راه و یا ماده‌ای بوده‌اند که بتواند به عنوان جانشین مناسب، چه از نظر مورفولوژی و چه از نظر فانکشن، نقایص استخوانی را برطرف کند[۱].

پیوند استخوان اتوژن جهت ترمیم قسمتهای از دست رفته، یکی از روشهای رایج درمانی است. منتهی لازم است جراحی در دو و یا چند منطقه بدن انجام شود که طبعاً برای بیمار مشکلات زیادی در پی دارد. پیوند قطعات استخوانی آلوژنیک نیز یکی از روشهای پیشنهادی است. این شیوه اگرچه مشکلات درمان قبلی را ندارد ولی احتمال تشکیل کانون های عفونی، واکنش های ایمونولوژیک و پس زدن بافت پیوندی وجود دارد[۲و۳].

با عطف به این مشکلات خاص، از دهه ۱۹۸۰ به بعد استفاده از هیدروکسی آپاتایت و مواد آلوپلاستی دیگر در جراحی‌های مختلف بخصوص جراحی‌های دهان و فک و صورت، رواج یافته است. معهذا به دلیل گرانی و کمبود این مواد بویژه هیدروکسی‌آپاتایت و همچنین نداشتن ویژگی های یک بافت استخوانی مناسب، به ناچار محققان به دنبال استفاده از شیوه‌های دیگری به منظور جبران نقایص استخوانی بوده‌اند[۴و۵].

از راههای دیگر درمانی پیشنهاد شده، می توان از خاصیت القاء استخوان‌سازی بافتهای مختلف نام برد که احتمال آن در قطعات دندانی از سایر بافت ها (غیر از استخوان) بیشتر است[۶].

همچنین می توان به خاصیت القاء استخوان سازی ترکیبات مختلف از جمله BMP[1]s (پروتئین‌های مورفوژنز استخوان) اشاره کرد. اولین کسی که به خاصیت القاء استخوان توسط BMPs پی برد، Urist در سال ۱۹۶۸ بود. مطالعات متعدد Urist نشان داد که با کاشتن BMP در عضله rat، تشکیل استخوان تقویت می‌شود. این پدیده به علت آن است که این مواد به طور موضعی عمل کرده و باعث تحریک و تغییر فیبروبلاست های بافت همبندی میزبان به کندروبلاست یا استئوبلاست شده و در نتیجه باعث تشکیل استخوان می گردد[۷-۱۰].

1. Bone Morphogenic Protein

www.SID.ir

Archive of SID

مطالعاتی که تاکنون در رابطه با تاثیر مصرف سیستمیک ترکیبات استاتین بر روی بافت استخوانی انجام شده نتایج ثابت و یکسانی را به دنبال نداشته است. لذا بر آن شدیم با توجه به تاثیری که این ترکیبات بر روی بافت استخوانی دارند، اثر القاء استخوان سازی این ترکیبات را در نواحی که به طور طبیعی استخوان وجود ندارد مثل عضله و بافت زیرپوستی، در موش صحرایی ارزیابی کنیم.

مواد و روش ها:

تحقیق حاضر که تجربی – مشاهده ای بود بر روی ۱۰ موش صحرایی (rat) نر با وزن متوسط حدود ۲۵۰ گرم و سن حدود ۱۶ هفته و ۱۰ موش صحرایی ماده با وزن متوسط حدود ۳۰۰ گرم و سن حدود ۱۶ هفته انجام شد. حجم نمونه در مطالعه حاضر با استفاده از مطالعات مشابه انتخاب گردید. کلیه این موش‌ها از نژاد Dowely–Sprague بوده و از انیستیتوپاستور خریداری شده بودند. موش‌ها به طور تصادفی در ۷ گروه مختلف قرار داده شدند. لازم به ذکر است که موش‌های نر و ماده‌ایی که در یک گروه قرار می‌گرفتند، در قفسه‌های جداگانه نگهداری می‌شدند. ابتدا فرم پودری ترکیبات استفاده شده در این مطالعه بر اساس منوگراف‌های USP26 و با استفاده از پلی اتیلن گلیکول ۳۰۰ به فرم تزریقی تبدیل شد. سپس تک تک ratها با استنشاق گاز ناشی از ۲cc هالوتان مایع ظرف مدت ۲ دقیقه در اتاقک مخصوص بیهوشی حیوانات، بیهوش گردیدند. در گروه ٤ تایی اول در ناحیه زیر پوست پشت rat، چهار تزریق از محلول ترکیبات Simvastatin , Atorvastatin ، Lovastatin و پلی‌اتیلن‌گلیکول به میزان ۰/۵ ml به ترتیب در ٤ ناحیه: چپ بالا، راست بالا، راست پایین، چپ پایین تزریق شد. در گروه ٤ تایی دوم یک rat به علت overdose شدن ماده استنشاقی مرد و در بقیه ratها، همین مقادیر در نواحی فوق‌الذکر به صورت زیرپوستی تزریق گردید منتهی به صورت چرخشی محل تزریق مواد تغییر می‌کرد. به طوری که در این گروه Atorvastatin، Lovastatin، Simvastatin و پلی‌اتیلن‌گلیکول به ترتیب در نواحی راست بالا، راست پایین، چپ پایین و چپ بالا تزریق شدند. در گروه ٤ تایی سوم، به همان صورت عمل شده و با تغییر چرخشی در محل‌های فوق، همان مقادیر از ترکیبات فوق تزریق گردید. در این گروه دو rat ماده و دو rat نر قرار گرفت که در قفس‌های جداگانه‌ای نگهداری شدند. در گروه چهارم که شامل ۲ rat بود، در عضلات ران و بازوی موش‌ها، ۰/۵ ml محلول Atorvastatin تزریق شد. در گروه پنجم که شامل دو rat بود، یک rat به علتoverdose شدن ماده استنشاقی مرد و در عضلات ران و بازوی rat دوم ۰/۵ml محلول Simvastatin تزریق شد. در گروه دوتایی ششم، در عضلات ران و بازوی موشها ۰/۵ ml محلول Lovastatin تزریق شد. در گروه هفتم که شامل دو rat بود، یک rat به علت overdose شدن ماده استنشاقی مرد و در عضلات ران و بازوی rat دیگر ۰/۵ml پلی‌اتیلن‌گلیکول تزریق شد. نهایتاً ۳ rat از مطالعه خارج شدند. برای تعیین محل‌های تزریق و نوع ماده تزریقی، از ماژیک های رنگی که اثرشان پاک نمی‌شود، استفاده شد. به طوری که هر رنگ نمایانگر یک ترکیب تزریق شده بود. (مثلاً رنگ سرخ نماینده تزریق Simvastatin و رنگ آبی نماینده تزریق Atorvastatin و ... بود) در صورت لزوم، رنگ کردن محلهای قبلی تجدید می‌شد. ratها در قفس‌های مخصوص نگهداری حیوانات قرار گرفته و بر روی هر قفس مشخصات تزریقات نوشته شد.

لازم به ذکر است از تزریق پلی‌اتیلن‌گلیکول به عنوان شاهد، به منظور بررسی این نکته که استخوان ایجاد شده به دلیل خاصیت استخوان سازی ترکیبات استاتینی است یا به علت ترومایی که به محل وارد شده است و همچنین برای تعیین اینکه پلی‌اتیلن‌گلیکول،

www.SID.ir

Archive of SID

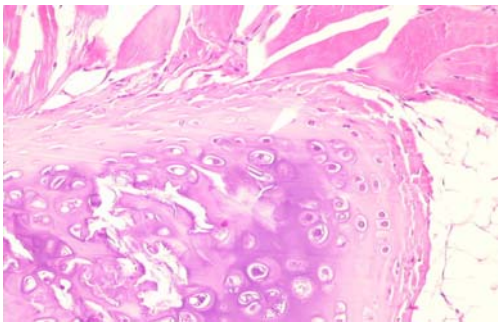
حلال ماده اصلی اثری بر عملکرد ترکیب اصلی نداشته است، استفاده شد. در روزهای پس از عمل به حیوانات غذای مخصوص موش داده شد و از لحاظ ظاهری بررسی می‌شدند. به ظاهر تغییری در عملکرد دست و پای ratها مشاهده نشد.

پس از گذشت ٤٢ روز rat های گروه های ۷ گانه فوق، به صورت جداگانه با استنشاق گاز ناشی از cc ۳ هالوتان مایع در اتاقک مخصوص بیهوشی حیوانات sacrificed شدند و سپس محل‌های شامل تزریق به صورت مجزا با بیستوری و قیچی جراحی از سایر قسمتها جدا شد. در ناحیه پشت پس از آنکه با بیستوری برشی داده شد، با استفاده از قیچی، پوست جدا شده و ناحیه زیرپوستی محل تزریق با بیستوری و قیچی جدا گردید. تمام نمونه‌های تهیه شده به طور جداگانه‌ای در ظروف پلاستیکی درب‌دار حاوی فرمالدئید ۱۰٪ خنثی قرار داده شد و بر روی هر ظرف اتیکتی شامل مشخصات آن از قبیل محل تزریق و نوع ماده تزریقی چسبانده شد. نمونه‌ها به مرکز پاتولوژی دانشگاه شهید بهشتی تهران ارسال گردید. بعد از طی مراحل لابراتواری و تهیه ۵ تا ۱۰ مقطع به ضخامت ۵ میکرون از هر نمونه ٦٧٠ لام تهیه شد و توسط پاتولوژیست دهان با میکروسکوپ NIKON مدل Y-THM زیر نور پلاریزه بررسی شده و با دوربین دیجیتال FUJIX مدل HC-300 ZI عکسبرداری گردید و در برنامه فتوشاپ بررسی شد.

یافته‌ها:

در بررسی برش های میکروسکوپی تهیه شده، در ۳ نمونه وجود ماده سخت ردیابی شد. در سایر نمونه‌ها نتوانستیم ماده سخت را ردیابی کنیم و علائمی از التهاب و سایر متغیرها دیده نشد.

از ۳ نمونه فوق‌الذکر، در نمونه حاصل از تزریق زیرپوستی محلول Simvastatin در ناحیه پشت rat، بافت غضروفی دیده شد. التهاب و سلول ژیانت و گرانولوم جسم خارجی مشاهده نگردید. در اطراف این کانون غضروفی، بافت همبندی مزانشیمال فعال، در حال تمایز به غضروف دیده شد.



تصویر ۱ : هیستولوژیک غضروف تشکیل شده در محل تزریق Simvastatin

در نمونه دیگری که از محل تزریق زیرپوستی محلول Simvastatin در ناحیه پشت موش دیگری تهیه شده بود، دو کانون بافت سخت تشکیل شده بود که کاملاً استخوانی بودند و حدود ۵٪ آن را غضروف و ۹۵٪ آن را بافت استخوانی به صورت مخلوطی از استخوان لاملار و woven تشکیل می داد. در اطراف ناحیه استخوانی،ریم استئوبلاستی فعال به همراه سلول ژیانت (به شکل منفرد) دیده شد.

در لامی که از محل تزریق Lovastatin در پشت rat تهیه شده بود، دو کانون از ماده کلسیفیه سخت شامل ۵٪ بافت غضروفی و ۹۵٪ استخوان به صورت مخلوطی از استخوان لاملار و woven تشکیل شده بود. در اطراف این نواحی استخوانی ریم استئوبلاستی فعال مشهود بود و در یک کانون، در مرکز آن بافتی مشابه با مغز استخوان تشکیل گردیده بود. در این لام التهاب، سلول ژیانت و گرانولوم جسم خارجی دیده نشد. نتایج فوق به صورت خلاصه در جدول ۱ آمده است.

www.SID.ir

Archive of SID

جدول ۱ : توصیفی لام هایی که تغییرات بافتی را از خود نشان داده اند.

نوع ماده تزریقی	ناحیه تزریق	ماده کلسیفیه	نوع استخوان	التهاب	گرانولوم جسم خارجی	سلول ژیانت	ریم‌استئوبلاستی فعال
Simvastatin	پشت rat	۱۰۰٪ غضروف	----	ندارد	ندارد	ندارد	ندارد
Simvastatin	پشت rat	۵٪ غضروف ۹۵٪ استخوان	لاملار + woven	دارد	ندارد	دارد	دارد
Lovastatatin	پشت rat	۵٪ غضروف ۹۵٪ استخوان	لاملار + woven	ندارد	ندارد	ندارد	دارد

بحث:

مطالعات انجام شده تا به امروز در رابطه با پدیده القاء استخوانسازی توسط عوامل مختلف، بر این اساس استوار بوده است که پیش‌ساز سلولهای استئوبلاستیک که در بافتهای چربی، زیرپوستی، عضله و استخوان یافت می‌شوند، می‌توانند تحت تاثیر این عوامل، به سلولهای استخوانساز (استئوبلاست) تمایز یابند[۱۱]. به همین دلیل در مطالعه حاضر، از کاربرد ترکیبات استاتینی در عضله و زیر پوست rat به منظور بررسی پدیده القاء استخوان سازی استفاده گردید. مکانیسمی که به نظر می‌رسد با بررسی به عمل آمده در خواص فارماکوکنتیک دارو در اثراتش بر روند ذکر شده تاثیرگذار باشد، مهار مسیر mevalonate در بخش prenylation مربوط به GTP_{ase} های کوچک می‌باشد[۱۲].

با عنایت به اینکه پیدا کردن محل دقیق تزریق دارو در حجم زیاد یک عضله مشکل می‌باشد معهذا نتایج حاصل از برش های بافت شناسی نمونه‌های عضله rat نشان داد که این ترکیبات به ویژه Lovastatin و Simvastatin احتمالا می‌توانند Osteoinductive باشند، خصوصاً این که در دو نمونه تمایز تدریجی بافت عضلانی به بافت stem استخوانی همراه با ریم استئوبلاستی فعال مشاهده گردید.

با مروری بر منابع موجود مشخص می‌گردد که مطالعاتی در رابطه با مصرف ترکیبات استاتینی با تمرکز بر ویژگی اثر آنها بر بافت استخوانی صورت پذیرفته ولی در رابطه با ویژگی Osteinductivity به روش صحیح و قابل بررسی علمی، مطالعه ای انجام نشده است. بنابراین در اینجا به نتایج چند مطالعه شاخص که تا حدی هدایتگر پژوهشگر به انجام این تحقیق بوده است، اشاره می‌کنیم.

Mundy و همکارانش در سال ۱۹۹۹ در مطالعه‌ای نشان دادند که مصرف سیستمیک Simvastatin می‌تواند بیان BMP-2 را افزایش داده و نتیجه اینکه می‌تواند تشکیل استخوان را گسترش دهد[۱۲].

یافته‌های مطالعه Sugiyama و همکارانش در سال ۲۰۰۰ نیز این نتایج را تایید کردند[۱۲].

Chan و همکارانش در سال ۲۰۰۰ و Wang و همکارانش در سال ۲۰۰۰ در مطالعات کارآزمایی بالینی خود نشان دادند که ترکیبات استاتین می‌توانند خطر شکستگی hip را در زنان پیر کاهش دهد. همچنین در مطالعه‌ای که به صورت کارآزمایی بالینی توسط

www.SID.ir

Archive of SID

Funkhouser و همکارانش در سال ۲۰۰۲ انجام شد، مشاهده گردید که تجویز سیستمیک استاتین می‌تواند تراکم بافت استخوانی را در مردان افزایش داده و خطر استئوپروز را در انسان کاهش دهد[۱۳].

در مطالعه‌ای که توسط Song و همکارانش در سال ۲۰۰۲ انجام شد، گزارش گردید که Simvastatin می‌تواند بیان ژن BMP-2 را در محیط کشت سلولهای استرومال مغز استخوان و همچنین فعالیت آلکالین فسفاتازی آنها را افزایش دهد[۱٤].

در مطالعه‌ای که توسط Ayukawa و همکارانش در سال ۲۰۰٤ انجام شد، مشاهده گردید که تجویز داخل صفاقی Simvastatin در rat می‌تواند روند استخوان سازی را در اطراف ایمپلنت‌های تیتانیومی تقویت نماید که نتایج این مطالعه با مطالعه Oxlund در سال ۲۰۰۲ مشابه بود[۱۵].

تقریباً به همان تعداد مقالاتی که تاثیر این ترکیبات را تایید می‌کنند، مقالاتی نیز در منابع مشاهده می‌گردند که نتوانسته‌اند تاثیر ترکیبات استاتینی را بر روی بافت استخوانی (به صورت in vivo) به اثبات برسانند، مانند مطالعه Von Stechow و همکارانش در سال ۲۰۰۳ که شاید یکی از دلایل عمده آن Liver - targeted بودن ترکیبات استاتینی باشد که مانع از رسیدن دارو به بافت استخوانی می‌گردد و بر این اساس پیشنهاد کردند که برای نشان دادن این اثر ترکیبات فوق در in vivo، فرمول‌بندی آنها باید اصلاح شود[۱٦].

مطالعاتی هم وجود دارد که اثر القاء استخوان سازی ترکیبات دیگر را به اثبات رسانده‌اند که به چند نمونه آن اشاره می‌کنیم. مطالعه Kubler و Urist در سال ۱۹۹۱ نشان داد که کاشتن BMP به همراه پروتئینهای غیرکلاژنی نامحلول (NCP) به عنوان حامل در عضله rat منجر به تشکیل ossicle جدید می‌شود[۸].

مطالعه Yamanguchi در سال ۱۹۹۱ نشان داد که استفاده از BMP-2 در محیط کشت سلول های مزودرمالی، می‌تواند باعث تمایز سلولهای پره‌کورسور مزانشیمال به سلولهای غضروف‌ساز و استخوان ساز شود [۱۷].

Sigurdsson و همکارانش در سال ۱۹۹۵ طی یک مطالعه کارآزمایی بالینی در سگ نشان دادند که استفاده از rh-BMP در ضایعات استخوانی پریودنتالی ایجاد شده به طریقه جراحی، باعث تقویت تشکیل استخوان می‌گردد[۱۸].

مطالعه Urist در سال ۱۹۹٦ نشان داد که کاشته شدن BMP-2 نوع ترکیبی به همراه ماتریکس استخوانی غیر فعال شده به عنوان حامل، در عضله موشهای بالغ تشکیل استخوان heterotopic (را که شامل فضاهای استخوانی است) القاء می‌کند که نتایج مطالعه ۱۹۹۱ Kubler و Urist را تایید می‌کند[۹].

Murray و Urist و همکارانش طی مطالعه‌ای در سال ۱۹۹۷ گزارش کردند که سلول های مزودرمال چند قوه‌ایی و پره‌استئوبلاست‌های rat در محیط کشت، در پاسخ به BMP به سلولهای استئوبلاست تمایز می‌یابد[۱۰].

نتیجه‌گیری:

مطالعه حاضر نشان داد که برخی از ترکیبات استاتینی احتمالا می توانند خاصیت القاء کنندگی استخوان سازی را داشته باشند بنابراین توصیه می گردد که در تحقیقات بعدی با عنایت به نیاز مبرم به این قبیل ترکیبات، ویژگی القاء استخوان سازی، دوز مناسب و موثر بودنش در انسان مورد ارزیابی و تحقیق بیشتر قرار گیرد.

www.SID.ir

Archive of SID

منابع:

1. Kruger GO. Textbook of oral and maxillofacial surgery. 6th ed. St. Louis: The CV Mosby Co; 1984; P. 106.
2. Andergg CR. Clinical evaluation of the use of decalcified freeze – dried bone allograft with guided tissue regeneration in the treatment of molar furcation invasions. J Periodontol 1991; 62: 264-8.
3. Soins ST. Healing of spontaneous periodontal defects in dogs treated with xenogenic demineralized bone. J Periodontology 1985; 56: 470-9.
4. Wijis F, Putler C, Lange GL. Local residual ridge augmentation with solid hydroxyapatite block. Part 1, An animal experimental. J Prosthet Dent 1993; 69: 510-3.
5. Green JP, Woino TH. Bone formation in hydroxyapatite orbital implants. Am J Ophthalmol 1995; 120: 981-2.
6. Urist MR. Inductive substances for bone formation. Clin Orthop Related Res 1968; 59: 59-69.
7. Lindhe J, Karring T, Lang NP. Regenerative Periodontal therapy in Alveolar Bone Formation: Clinical Periodontology and Implant Dentistry , 4th ed. Copenhagen: Munksgaard; 2003; P. 667, 886.
8. Kubler N, Urist MR. Allogenic bone and cartilage morphogenesis. Rat BMP in vivo and in vitro, J Craniomaxillofac Surg. 1991; 19(7): 283-8.
9. Volek – Smith H, Urist MR. Recombinant human bone morphogenic protein (rh BMP) induced heterotopic bone development in vivo and in vitro, Proc Soc Exp Biol Med. 1996; 211(3): 265-72.
10. Murray SS, Urist MR, Grisanti MS, Bentley GV, Kahn AJ. The calpain-calpastatin system and cellular proliferation and differentiation in rodent osteoblastic cells. Exp Cell Res 1997; 233(2): 297-309
11. Robert E, Marx , Robert J. Genco, Samuel E. Lynch. Tissue Engineering, 1st ed. London: Quintessene Books; 1999. P. 30,72,83,97,103,125,147,231.
12. Garrett IR, Mundy GR. The role of statins as potential targets for bone formation. Arthritis Research. 2002; 11: 273-240.
13. Edwards CJ. Statins and bone morphogenetic proteins: new pathway in bone formation, Ann Acad Med Singapore 2002; 245-7.
14. Song CL, Dang GT, Guo ZQ. Effect of Simvastatin on bone morphogenic protein-2 expression and alkalin phosphates activity of bone marrow stromal cell. J Bone 2001; 27: 270-75.
15. Ayukawa ya , Dkamura A. Ayukaway: Simvastatin Promotes Osteogenesis Around titanium Implants. Clin Oral Implants Res 2004; 10: 346-50.

www.SID.ir

Archive of SID

16. Stechow D, Fish S, Chorev M. Does Simvastatin Stimulate bone formation in vivo? BMC Musculoskeltal Disoreder 2003; 8: 220-23.
17. Yamaguchi A. Recombinant human bone morphogenetic protein-2 stimulates osteobalstic maturation and inhibits myogenic differentiation invitro. J Cell Biol 1991; 113: 681-7.
18. Sigurdsson TJ. Periodontal repair in dogs: recombinant human bone morphogenetic protein-2 significantly enhances periodontal regeneration. J Periodontol 1995; 66: 131-8.

www.SID.ir