

ارزیابی هیستوپاتولوژیک تأثیر پودر نانوهیدروکسی آپاتیت / زیر کونیای

پایدار شده با ایترا در التیام استخوان درشت نی خرگوش

غلامرضا عابدی^۱، امیرعلی جهانشاهی^{۲*}، محمدحسین فتحی^۳، ایرج سهرابی حق دوست^۴، عباس وشکینی^۵

چکیده

هدف از این مطالعه بررسی نانوهیدروکسی آپاتیت / زیر کونیای پایدار شده با ایترا بر روی التیام استخوان در مدل آزمایشگاهی بود. پودر نانوهیدروکسی آپاتیت / زیر کونیای پایدار شده با ایترا در درشت نی خرگوش قرار داده شد و از لحاظ هیستوپاتولوژی مورد ارزیابی قرار گرفت.

بیست سر خرگوش سفید نیوزلندی نر به صورت تصادفی به دو گروه ۱۰ تایی تقسیم شدند. القای بیهوشی با استفاده از داروی کتامین (۲۰ mg/kg)، آسپرومازین (۰/۱ mg/kg) و آتروپین (۰/۰۲ mg/kg) بود و پس از آن حیوانات به دستگاه بیهوشی متصل و ادامه بیهوشی با استفاده از ایزوفلوران ۱/۱ انجام گرفت. سوراخی در درشت نی خرگوش به قطر ۳ میلی متر و عمق ۸ میلی - متر ایجاد شد. در گروه I قیصه خالی ماند، در صورتی که در گروه II قیصه با زیست مواد پر گردید. ارزیابی هیستوپاتولوژی پس از چهار هفته صورت گرفت.

پس از چهار هفته در گروه I، استخوان نابالغ شکل گرفته بود حال آن که در گروه II استخوان بالغ و نابالغ تشکیل شده، التهاب اندکی مشاهده می شود. واکنش جسم خارجی منفی و رشد استخوانی هم به صورت داخل از ایمپلنت و هم به صورت خارج از ایمپلنت بود. لاکونا های استخوانی حاوی استئوسیت بود و این حاکی از حیات بافت استخوانی شکل گرفته بود. تغییرات هیستولوژی در هر دو گروه امتیاز بندی شده و بررسی آماری حاکی از افزایش قابل توجه امتیازات در گروه II نسبت به گروه I بوده است.

ارزیابی هیستوپاتولوژیکی حاکی از بهبود التیام استخوانی توسط نانوهیدروکسی - آپاتیت / زیر کونیای پایدار شده با ایترا در مقایسه با گروه کنترل بود. این وضعیت نشان دهنده این است که این زیست مواد التیام استخوانی را با خاصیت استوکاندکتیو افزایش داده است.

واژگان کلیدی: نانوهیدروکسی آپاتیت، زیر کونیا، ایترا، درشت نی، خرگوش

تاریخ دریافت: ۹۱/۹/۱۰ تاریخ پذیرش: ۹۱/۱۱/۱۴

مقدمه

در طی سه دهه اخیر، تحولی اساسی در استفاده و کاربرد

سرامیکها به منظور بهبود کیفی عمر بشر پدید آمده است و توسعه و گسترش طراحی و ساخت بیوسرامیکها برای درمان بیماری و بازسازی صدمات وارد بر بدن و ترمیم اعضا به وقوع پیوسته است (۴). اغلب کاربردهای بالینی بیوسرامیکها مرتبط با سیستم اسکلت بدن، استخوان، دندانها، مفاصل و بازسازی یا بسط و افزایش بافت نرم و سخت بدن است. بیوسرامیکها در انواع شکلها با فازهای مختلف تولید می شوند و عملکرد متفاوتی در ترمیم بدن ارائه می کنند. در بسیاری از کاربردها، سرامیکها به شکل قطعه ای با شکل ویژه مصرف می شوند که به آنها ایمپلنت یا کاشتنی، عضو مصنوعی و یا وسایل اندام مصنوعی گفته می شود. بیوسرامیکها گاهی به صورت پودر برای پر کردن فضا و جای خالی به کار می روند تا فرایندهای طبیعی عمل عضو را حفظ کنند و برخی از اوقات به صورت پوشش بر روی یک زیرلایه فلزی کاشتنی یا به صورت فاز ثانویه در یک کامپوزیت دندانی مورد استفاده قرار می گیرند تا خواص هر دو ماده تلفیق شود و ماده جدیدی با خواص مکانیکی بالاتر و خواص شیمیایی - زیستی بهتری فراهم شود (۴).

از مهمترین بیوسرامیک های مورد استفاده در پزشکی که در سالهای اخیر تحقیقات زیادی را به خود اختصاص داده است، هیدروکسی آپاتیت می باشد. این بیوسرامیک زیست فعال است، بدین معنی که پس از کاشت آن در بدن، بافت استخوان جدیدی بر روی آن رشد کرده و اتصال محکمی میان این نوع کاشتنی با بدن برقرار می شود. هیدروکسی آپاتیت از نظر ترکیب شیمیایی

۱- دانشگاه آزاد اسلامی، واحد علوم و تحقیقات تهران گروه درمناهی، تهران، ایران

۲- دانشگاه آزاد اسلامی، واحد علوم و تحقیقات تهران، دمنبار تخصصی جراحی، تهران، ایران (Amirali.jahanshahi@gmail.com)

۳- استاذ، دانشکده مهندسی مواد، دانشگاه صنعتی اصفهان، اصفهان، ایران.

۴- دانشگاه آزاد اسلامی، واحد علوم و تحقیقات تهران، گروه پاتولوژی، تهران، ایران.

۵- دانشگاه آزاد اسلامی، واحد علوم و تحقیقات تهران، گروه درمناهی، تهران، ایران

افزودن ایتریا به آن در دمای اتاق پایدار می شود، بالاترین میزان استحکام و چقرمگی را دارا خواهد بود (۱۶).

از سوی دیگر، مزیت ساختارهای نانومتری در این گونه کامپوزیت‌ها، افزایش چسبندگی سلول‌های استخوان ساز و کاهش احتمال مرگ سلولی است. واکنش پذیری بالای این سطوح افزایش معدنی شدن آپاتیت را در سطح آن‌ها به همراه داشته و سبب تثبیت سریع‌تر کاشتنی در محیط بدن خواهد شد. ساخت پودر، بالک و داربست بیوسرامیکی کامپوزیتی حاوی اجزای نانومتری می‌تواند زیست سازگاری و زیست فعالی مطلوب، کنترل نرخ اضمحلال و بهینه ساختن خواص مکانیکی را موجب شود (۱۶).

شکستگی‌های استخوانی یکی از مشکلاتی است که از دیرباز انسان با آن درگیر بوده و خواهد بود. در اغلب موارد، محل شکستگی به طور کامل توسط بافت استخوانی ترمیم نمی‌شوند و گاهی بافت التیامی مستعد به شکستگی‌های بعدی خواهد بود. به منظور تسهیل و پیشبرد وضعیت ترمیم ضایعات استخوانی، مواد پیوندی داخل نقایص استخوانی بکار برده می‌شود. به نظر می‌رسد با توجه به خواص نانو-پودر هیدروکسی آپاتیت/ زیرکونیای پایدار شده با ایتریا، این نانوکامپوزیت توانائی افزایش کیفیت بافت التیامی را دارا باشد.

مواد و روش کار

در ابتدا از روش سل-ژل برای ساخت نانوپودر کامپوزیتی - هیدروکسی آپاتیت/ زیرکونیای پایدار شده با ایتریا استفاده شد. نانو پودر زیرکونیای پایدار شده با ایتریا با درصد ۵ از ایتریا تهیه و سپس به سل هیدروکسی آپاتیت افزوده می گردید.

بیست سر خرگوش سفید نیوزلندی نر با وزن تقریبی ۲ تا ۳ کیلوگرم که در شرایط محیطی یکسان از لحاظ تغذیه و نور نگهداری می‌شدند، انتخاب و به صورت تصادفی به دو گروه ۱۰ تایی تقسیم شدند. القای بیهوشی با استفاده از دارویی کتامین

و ساختار، شبیه بخش غیر آلی استخوان است و در نتیجه سطح کاشتنی را به اجزای غیرآلی پیوند می دهد. هیدروکسی آپاتیت با بافت‌های سخت و نرم زیست سازگار است، به عبارت دیگر استخوان دوست است، جذب نمی شود و تحلیل نمی رود. استخوان سازی را تحریک می کند و باعث می شود که استخوان به درون تخلخل‌های موجود (تخلخل‌های میان گرانولها یا موجود در قطعه) رشد کند. هیدروکسی آپاتیت پیوند مستقیمی با استخوان ایجاد می کند و چسبندگی مطلوبی حاصل می‌شود. در نتیجه با توجه به خاصیت زیست سازگاری هیدروکسی آپاتیت، با استخوان و نیز با بافت‌های نرم، این ماده بهترین جانشین برای بافت‌های سخت بدن می‌باشد (۴).

نانو ذرات هیدروکسی آپاتیت با ویژگی‌های مشابه به استخوان بدن یک ماده مناسب برای پوشش می باشند. علت اینکه کاشتنی‌های ساخته شده با مواد متداول اغلب در نهایت از بدن پس زده می‌شوند اندازه بزرگ دانه‌ها و همچنین آلودگی‌های سطوح مولکولی و ناخالصی‌ها است. با بهره‌گیری از نانوذرات هیدروکسی آپاتیت درصد خلوص مولکولی افزایش و ویژگی‌های مکانیکی نیز بهبود می‌یابد. کاشتنی‌هایی با چنین هیدروکسی آپاتیت پوششی کمترین شکستگی و پس زدگی را خواهند داشت (۶ و ۴).

هیدروکسی آپاتیت همانند سایر بیوسرامیک‌ها به دلیل داشتن خواص مکانیکی ضعیف ذاتی مانند چقرمگی شکست پایین و تردی، اغلب به صورت پوشش بر روی سطح کاشتنی‌های فلزی کاربرد دارد. برای استفاده از هیدروکسی آپاتیت به صورت پودر، بالک و یا داربست و غلبه بر این مشکل نیز تهیه کامپوزیت هیدروکسی آپاتیت با سایر بیوسرامیک‌ها پیشنهاد شده است (۱۶). نانو هیدروکسی آپاتیت تقویت شده با زیرکونیای پایدار شده با ایتریا، به دلیل چقرمگی شکست بالا و خواص مکانیکی فوق‌العاده، مورد توجه قرار گرفته است. زیرکونیا با ساختار آلوتروپی تراگونال یا مکعبی که با

طی دوره پس از جراحی از داروی ضد درد کتوپروفن به میزان 2 mg/kg به مدت 3 روز و آنتی بیوتیک سفازولین، به میزان 22 mg/kg به مدت 5 روز، هر دو به صورت عضلانی استفاده گردید تا درد پس از عمل را برطرف کرده و از ایجاد عفونت جلوگیری نماید.

خرگوش‌ها پس از 4 هفته با تزریق 2 میلی لیتر از تیوپتال سدیم 10٪ معدوم شدند. نمونه برداری از محل پیوند انجام شد. پس از آن قطعه‌های استخوانی به فرمالین 10٪ انتقال و حداقل به مدت 10 روز در این محلول نگهداری شدند تا تثبیت کامل صورت گیرد. پس از آن نمونه‌ها با اسید نیتریک 10 درصد کلسیم‌زدایی و به دنبال آن آبگیری و در نهایت قالب‌گیری شدند. پس از مراحل فوق، از روی قالب‌های پارافینی، مقاطعی به ضخامت 5 میکرون تهیه و توسط رنگ همتوکسیلین - ائوزین رنگ گردیدند. بررسی نمونه‌ها توسط پاتولوژیست ناآگاه و مطابق با پارمترهای جدول 1 انجام پذیرفت. پس از جمع آوری داده‌ها با آزمون آماری انحراف معیار (ANOVA) در بسته نرم‌افزاری آماری اس پی اس (SPSS) نسخه 15 مورد بررسی قرار گرفتند و عدد پی (P) کمتر از 0/05 معنی‌دار در نظر گرفته شد.

هیدروکلراید (20 mg/kg)، آسپرومازین (0/1 mg/kg) و آتروپین سولفات (0/02 mg/kg) صورت گرفت و پس از آن حیوانات به دستگاه بیهوشی متصل و ادامه بیهوشی با استفاده از ایزوفلوران 1٪ انجام گرفت. پس از بیهوشی موهای سطح داخلی پا اصلاح و اسکراب گردید. برشی به طول 5-7 سانتی‌متر بر روی سمت قدامی-داخلی درشت نی موازی با ستیغ درشت نی ایجاد شد. پس از ایجاد برش، سایت عمل بوسیله دو پنس آلیس باز و پیوست موجود بر روی استخوان درشت‌نی بوسیله الواتور پیوست از روی استخوان کنار زده شد. آنگاه با استفاده از دریل نقیصه‌ای به قطر 3 میلی‌متر و عمق 8 میلی‌متر بر روی دیافیز استخوان درشت نی ایجاد شد. همچنین در هنگام دریل کردن از سرم فیزیولوژی استفاده می‌شود تا از گرم شدن بیش از اندازه استخوان جلوگیری شود.

پس از ایجاد نقیصه، در گروه درمان (II) نانوپودر هیدروکسی آپاتیت/ زیرکونیای پایدار شده با ایتریا قرار داده شد و در گروه (I) هیچ ماده‌ای قرار داده نشد. پس از قرارگیری بیومتریال‌ها، پیوست و پوست بخیه شد. ناحیه عمل مجدداً توسط محلول بتادین 10٪ ضدعفونی شد، و حیوان برای برگشت از بیهوشی به یک محل گرم منتقل گردید تا پس از بیهوش آمدن کامل به محل نگهداری خود بازگردانده شود. در

جدول 1- امتیازدهی هستیوپاتولوژی

پارامترها	امتیازات			
	0	1	2	3
هم‌راستای رشته‌های کلاژن	بدون شکل‌گیری رشته‌های کلاژن	استخوان وون	استخوان وون+لاملاز	استخوان لاملاز
ضخامت تراپکولی	0	20μ >	20μ <- 60μ	> 60μ
التهاب	حضور شدید سلول‌های آماسی	حضور سلول‌های آماسی	تعداد اندکی سلول آماسی	سلول آماسی وجود نداشت
واکنش به جسم خارجی	واکنش مثبت	واکنش منفی	واکنش منفی	واکنش منفی
حیات استخوان شکل گرفته	استئوسیتی در لاکونا تراپکولی وجود نداشت	وجود استئوسیت در لاکونا تراپکولی	وجود استئوسیت در لاکونا تراپکولی	وجود استئوسیت در لاکونا تراپکولی

نتایج

۲۰ سر خرگوش سفید نیوزلندی نر تحت عمل جراحی قرار گرفتند و تمام حیوانات تا پایان دوره مطالعه زنده بودند. پس از گذشته چهار هفته، استخوان نابالغ در گروه کنترل تشکیل شده بود (نگاره ۱)، همچنین در گروه تحت درمان ترکیبی از استخوان بالغ و نابالغ شکل گرفته بود (نگاره ۲). در گروه درمان واکنش جسم خارجی منفی بود. رشد استخوانی به صورت داخل زیست مواد و به صورت محیطی صورت گرفته بود. لاکوناهاستخوانی حاوی استئوسیت بود و این حاکی از حیات استخوان شکل گرفته بود. نتایج هیستوپاتولوژی در جدول شماره ۲ خلاصه شده است.

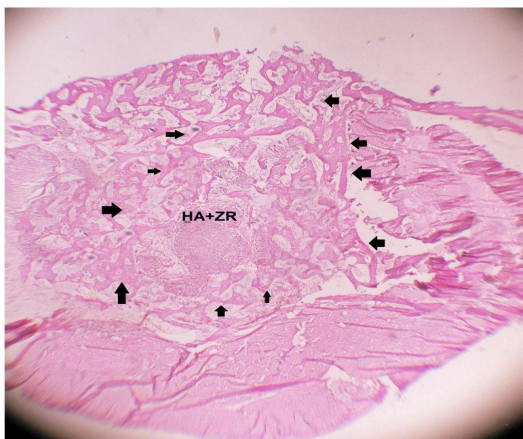
جدول ۲- نتایج هیستوپاتولوژی التیام استخوان

(حداکثر امتیازدهی) پارامترها	گروه‌ها	
	I	II*
هم‌راستای رشته‌های کلاژن	۰/۹	۱/۷۶
ضخامت تراپکولی	۰/۸۴	۱/۹۳
التهاب	۱/۳۴	۲/۱۷
واکنش جسم خارجی	۰	۰
حیات استخوانی	۱	۱
جمع کلی	۴/۰۸	۶/۸۶

گروه II نسبت به گروه I در بازه زمانی ۴ هفته معنی‌دار بود. $p < 0.05$



نگاره ۱- (گروه کنترل) در محل نقیصه استخوان سازی به شکل اندک دیده می‌شود. استخوان شکل گرفته از نوع وون است. مغز استخوان (BM) مشاهده می‌شود (H&E*64).



نگاره ۲- (گروه نانوهیدروکسی آپاتیت به همراه زیرکونیا) وجود مقدار زیادی بافت استخوانی لاملار اسفنجی (نوک پیکان)، استخوان‌سازی هم به صورت کورتیکال و هم مدولاری انجام گرفته است. نانوهیدروکسی آپاتیت و زیرکونیا (HA+ZR) مشاهده می‌شود (H&E*64).

بحث

زیست مواد سرامیکی به دلیل ساختار شیمیایی و ماهیت فیزیکی به طور گسترده‌ای در ارتوپدی و دندان‌پزشکی به کار برده می‌شوند (۴). تاکنون در سراسر جهان استفاده از سرامیک‌های کلسیم فسفات‌ی به دلیل شباهت ساختاری با فاز معدنی استخوان با موفقیت فراوانی همراه بوده است. در این میان، در حوزه مواد زیستی کلسیم فسفات‌ی، تحقیقات فراوانی روی ترکیب هیدروکسی آپاتیت متمرکز شده است (۶). در تحقیقی که توسط Woodard بر روی هیدروکسی آپاتیت صورت گرفت نشان داده شد که این ترکیب از زیست سازگاری مناسبی برخوردار است و به دلیل شباهت زیاد با ماتریکس استخوانی می‌توان برای باسازی عیوب استخوانی از آن استفاده نمود (۱۹).

با همه مزایای هیدروکسی آپاتیت، عدم جایگزینی کامل بافت استخوان به دلیل غیر قابل جذب بودن آن از مشکلات و نکات منفی این نوع زیست مواد محسوب می‌شود. البته در تحقیقی که توسط Sogona و همکاران صورت گرفت، نشان داده شد که ترکیبات کلسیم فسفات‌ی نظیر دی کلسیم

نمایند (۱۰ و ۵). پس به دنبال تمام مزیت‌های فوق استفاده از این ماده در سال‌های اخیر گسترش یافته است.

پوشش اکسید زیرکونیا که بر روی پروتزهای که برای بازسازی سر استخوان ران به کار می‌رود، علاوه بر افزایش قدرت اتصالی استخوان به پروتز، سبب کاهش سایس و خوردگی نیز می‌شود، که این ویژگی‌ها به دنبال خاصیت چقرمگی بالا و افزایش تحمل فشار حاصل می‌شوند. همچنین این افزایش سطح جذبی استرس، فعالیت‌های استئوبلاست‌ها را افزایش داده و به دنبال آن قدرت اتصالی به استخوان افزایش می‌یابد، که این ویژگی‌ها بیان‌کننده هدایت استخوانی زیرکونیا می‌باشد (۱۲ و ۱۱).

در مطالعه فوق تأثیر ترکیب نانوهیدروکسی آپاتیت و زیرکونیا پایدار شده با ایتریم بر روی التیام استخوان بررسی شد. در گروه تحت درمان شکل‌گیری و نوع استخوان تشکیل شده به مراتب بیش از گروه کنترل بود. نتایج تحقیق فوق نیز دال بر افزایش فعالیت استئوبلاستی به واسطه افزایش سطح و کاهش اندازه ملکولی است که مطابق با نتایج Zhang و Wang می‌باشد و بهینگی ترکیب فوق را برای بازسازی آسیب‌های استخوانی بیان نمود.

REFERENCES

1. Ahmad, I. (1998): Yttrium-partially stabilized zirconium dioxide posts: an approach to restore coronally compromised nonvital teeth. *Int. J. Periodont. Rest Dent.* 18:455-465.
2. Akagawa, Y., Hosokawa, R., Sato, Y., Kameyama, K. (1998): Comparison between freestanding and tooth-connected partially stabilized zirconia implants after two years function in monkeys: a clinical and histological study. *J. Prosthet. Dent.* 80:551-558.
3. Akagawa, Y., Ichikawa, Y., Nikai, H., Tsuru, H. (1993): Interface histology of unloaded and early loaded partially stabilized zirconia endosseous implant in initial bone healing. *J. Prosthet. Dent.* 69:599-604.

هیدروژن دی‌هیدرات که از حلالیت بیشتری نسبت به هیدروکسی آپاتیت برخوردارند، از سرعت تخریبی بیشتری در بدن برخوردارند و پس از مدتی شروع به حل شدن در محیط فیزیولوژیکی بدن می‌کند (۱۷).

در ضمن در اثر این حلالیت، ماتریکس استخوانی به صورت خشن و دنداندار در آمده که سبب چسبندگی بهتر سلول‌های استخوانی می‌شود و در واقع به محض آنکه زیست مواد قابل جذب توسط سلول‌های استئوژنیک احاطه شود، محیطی مناسب برای تخریب و جذب ایجاد می‌شود (۱۷). در تحقیقی دیگر توسط Wang، هیدروکسی آپاتیت با پلیمر پلی‌آمید ترکیب شد، نتایج تحقیق آنها نیز بیان نمود که با افزایش سطح و افزایش حلالیت، سلول‌های استئوژنیک راحت‌تر زیست ماده مورد نظر را احاطه می‌نمایند (۱۸). Zhang، هیدروکسی آپاتیت را با کیتوسان ترکیب نمود و نتایج تحقیق آنها اینگونه بیان نمود که افزایش سطح برای اتصال ذرات زیست مواد و کاهش اندازه مولوکولی، فعالیت سلول‌های استئوژنیک را افزایش می‌دهد (۲۰).

زیرکونیا به دلیل زیست‌سازگاری بالا و تمایل شدیدی که به استخوان دارد، در جراحی بازسازی سر استخوان ران به کار می‌رود، همچنین در برخی موارد از این ماده برای پوشش‌دهی ایمپلنت‌های دیگر استفاده می‌شود (۱۵ و ۳، ۲، ۱). جایگزینی زیرکونیا در زیر پوست نشان داد که واکنش التهابی اندکی رخ می‌دهد و بافت فیبروزه کمی در اطراف آن شکل می‌گیرد (۹). در مطالعات دیگر نشان داده شده که این ماده خاصیت سمی و برانگیختگی سیستم دفاعی را دارا نمی‌باشد (۱۴ و ۸). همچنین این ماده باعث تغییر توالی کروموزومی نشده و سرطان‌زا نمی‌باشد، پس از این جهت که تغییری بر روی ژنتیک سلولی ایجاد نمی‌کند، سبب تسریع رشد می‌شود (۱۴ و ۱۳، ۷). اکسید زیرکونیا توانایی تنظیم ژنی را نیز دارا می‌باشد و به طور ویژه‌ای می‌تواند سیستم دفاعی و چرخه تکثیر سلولی را کنترل

4. Ben, B. (2003): Natural bioceramics: from coral to bone and beyond. *Cur. Opi. In. Solid Sta. Materi. Science.* 7: 283–288
5. Carinci, F., Pezzetti, F., Volinia, S., Francioso, F., Arcelli, D., Farina, E. (2004): Zirconium oxide: analysis of MG63 osteoblast-like cell response by means of a microarray technology. *J. Bioma.* 25:215–228.
6. Chu, T.M.G., Halloran, J.W., Hollister, S.J., Feinberg, S.E. (2001): Hydroxyapatite implants with designed internal architecture. *J. Mater. Sci. Mater. Med.* 12:471–473.
7. Covacci, V., Bruzzese, N., Maccauro, G., Andreassi, C., Ricci, G.A., Piconi, C. (1999): In vitro evaluation of the mutagenic and carcinogenic power of high purity zirconia ceramic. *Biomaterials.* 20:371–376.
8. Hulbert, S.F., Morrison, S.J., Klavitter, J.J. (1972): Tissue reaction to three ceramic of porous and non-porous structures. *J. Biomed. Mater. Res.* 6:347–374.
9. Ichigawa, Y., Akagawa, Y., Nikai, H., Tsuru, H. (1992): Tissue compatibility and stability of a new zirconia ceramic in vivo. *J. Prosthet. Dent.* 68:322–326.
10. Josset, Y., Oum'Hamed, Z., Zarrimpour, A., Lorenzato, M., Adnet, J., Laurent-Marquin, D. (1999): In vitro reactions of human osteoblasts in culture with zirconia and alumina ceramics. *J. Biomed. Mater. Res.* 47:481–493.
11. Kim, B.K., Bae, H.E., Shim, J.S., Lee, K.W. (2005): The influence of ceramic surface treatments on the tensile load strength of composite resin to all-ceramic coping materials. *J. Prosthet. Dent.* 4:357–362.
12. Lappalainen, R., Anttila, A., Heinonen, H. (1998): Diamond coated total hip replacements. *Clin. Orthop. Relat. Res.* 352:118–127.
13. Piattelli, A., Scarano, A., Quaranta, M. (1997): High precision, cost effective system for producing thin sections of oral tissues containing dental implants. *J. Bioma.* 18:577–579.
14. Piconi, C., Maccauro, G. (1999): Zirconia as a ceramic biomaterial. *J. Bioma.* 20:1–25.
15. Rosengren, A., Pavlovic, E., Oscarsson, S., Krajewski, A., Ravaglioli, A., Pincastelli, A. (2002): Plasma protein adsorption pattern on characterized ceramic biomaterials. *J. Bioma.* 23:1237–1247.
16. Salehi, S., Fathi, M.H. (2010): Fabrication and characterization of sol-gel derived hydroxyapatite/zirconia composite nanopowders with various yttria contents. *J. Cera. Intern.* 36: 1659–1667.
17. Sugona, K., Cekar, C. (2011): Role of Strontium on the Crystallization of Calcium Hydrogen Phosphate Dihydrate (CHPD). *J. Min. Mate. Character. Engi.* 7:625–636.
18. Wang, H., LI, Y., ZIO, Y. (2007): Biocompatibility and osteogenesis of biomimetic nano-hydroxyapatite/ polyamide composite scaffolds for bone tissue engineering. *J. Biomat.* 28: 3338–3348.
19. Woodard, J.R. (2007): The mechanical properties and osteoconductivity of hydroxyapatite bone scaffolds with multi-scale porosity. *J. Bioma.* 28:45–49
20. Zhang, J., LIO, G., WU, Q. (2012): Novel Mesoporous Hydroxyapatite/Chitosan Composite for Bone Repair. *J. Bionic. Engin.* 9: 243–251