

Физико-химические характеристики неорганических костнозамещающих трансплантационных материалов Inter-Oss и Bio-Oss для хирургической стоматологии – Сравнительный анализ

David S.H. Lee*, Y. Pai, Steve Chang

Department of Research and Development, SigmaGraft, 325 N Puente Street, Unit B, Brea, CA 92821, USA

Ключевая информация:

- Физико-химическое описание материала Inter-Oss практически идентично с Bio-Oss .
- Содержание остаточного белка в материале Inter-Oss ниже, чем в Bio-Oss .
- Внутренняя удельная поверхность материала Inter-Oss выше, чем у Bio-Oss .

Информация о статье

Хронология написания статьи:

Получено 5 Июня 2013

Получено в уст. форме 7 Февраля 2014

Принято в печать 1 Марта 2014

Ключевые слова:

Биоматериалы
Неорганические соединения
Тепловая обработка
Микроструктура

Краткий обзор

Неорганический костнозамещающий трансплантационный материал широко применяли для заполнения дефектов костей при пародонтальной и челюстно-лицевой хирургии. Цель исследования – составить полное описание неорганического костного материала Inter-Oss с помощью физических и химических методов анализа и сравнить его с материалом Bio-Oss, который появился на рынке трансплантационных костных материалов с 1995 г. Неорганический костный материал Inter-Oss был успешно приготовлен с помощью химической обработки (реагентами NaOH и H₂O₂) и низкотемпературного отжига при 350 °C с крайне низкой скоростью подъема температуры (<0.3 °C мин⁻¹). Для сравнения был выбран доступный в продаже неорганический костный материал Bio-Oss. Физический и химический анализ показал, что структура пор, микроструктура, фазовый и химический состав материала Inter-Oss идентичен Bio-Oss. Анализ методом БЭТ так же показал, что внутренняя удельная поверхность материала Inter-Oss выше, содержание остаточного белка в материале Inter-Oss ниже, чем в материале Bio-Oss. На основании схожих физических и химических характеристик с Bio-Oss, большей внутренней удельной поверхности и меньшего содержания остаточного белка в Inter-Oss, он может быть перспективным кандидатом в качестве трансплантационного костного материала в пародонтальной и челюстно-лицевой хирургии.

© 2014 Elsevier B.V. Перепечатка запрещена.

1. Введение

Использование трансплантационного костного материала в черепно-челюстно-лицевой и стоматологической хирургии набирает обороты [1,2]. Аутотранспланты и аллотранспланты являются очень эффективными заменителями костной ткани благодаря важным физико-химическим и биологическим свойствам, таким как иммунный ответ, хорошая остеоиндуктивность и остеокондуктивность [3-9]. Однако недостатком таких материалов является их дефицит на рынке [9-14]. Поэтому, были предложены и изучены альтернативные биоматериалы, такие как животные или синтетические пересадочные костные материалы. Примечательно, что среди этих материалов костный материал из коров и крупного рогатого скота имеет практически неисчерпаемые запасы, хорошие физико-химические характеристики и структурную схожесть с человеческой костью [15]. Поэтому,

Была предпринята попытка удалить органические соединения из кости коров без значительного изменения исходной губчатой структуры костного материала [16-19]. Для получения костного минерала высокой чистоты с исходной губчатой структурой (микропористость, разноразмерность пор, макропористая структура) химическая обработка и низкотемпературный отжиг для удаления органических соединений из кости коров являются очень эффективными.

Поэтому, в настоящем исследовании разработан высокочистый неорганический костный материал Inter-Oss с сохранением исходной структуры материала путем химической и низкотемпературной обработки с крайне низкой скоростью нагрева. Данный метод позволяет получать отделенный и очищенный костный минерал из кости коров, сохраняя исходную структуру как и в методе получения костного минерала Bio-Oss. Мы тщательно изучали свой неорганический костный минерал с точки зрения физико-химического описания. Удалось подтвердить, что неорганический костный минерал Inter-Oss

* Corresponding author. Tel.: +1 714 525 0114; fax: +1 714 525 0116.
E-mail address: wallee79@gmail.com (D.S.H. Lee).

Имеет физико-химические и структурные характеристики схожие с неорганическим костным минералом Bio-Oss, который использовался в качестве трансплантационного костного материала в стоматологической хирургии на протяжении всего сравнительного исследования.

2. Экспериментальная часть

2.1. Подготовка материалов

Неорганический костный минерал Inter-Oss был получен из кости коров. Все органические соединения удалялись с помощью двухэтапной химической обработки NaOH и H₂O₂ и низкотемпературного отжига. Остаточные органические соединения после химической обработки выжигались при температуре 350 °C, со скоростью нагрева менее 0.3 °C мин⁻¹). Неорганический костный минерал Bio-Oss был приобретен у производителя (Geistlich-Pharma AG, CH-6110, коммуна Вольхузен, Швейцария), так как он доступен на рынке.

2.2. Физические характеристики

Метод сканирующей электронной микроскопии (Микроскоп Hitachi Co., модель S-4700, Япония) и программа графического анализа (PAX-it Image Analysis, MIS) использовались для измерения размера пор и частиц костного минерала, а так же измерения их среднего размера. При наблюдении за средним размером пор, количественно они составляли от 100 до 150 размеров частиц и микропор или до 5 размеров мезопор. Метод рентгенофазового анализа (РФА, прибор Rigaku, модель DMAX-2200/PC, Япония) с Cu-K_α излучением и Фурье ИК-спектроскопия (FT-IR, Thermo Scientific, модель NICOLET-iS5, США) использовали для изучения микроструктуры костного минерала. РФА рентгенограмма была снята для определения составляющих минерал фаз, а Фурье ИК-спектроскопия позволила получить информацию об отдельных функциональных группировках костного минерала. Внутренняя удельная поверхность костного минерала была определена с помощью метода Брюнера-Эммета-Теллера (БЭТ, BEL Japan Inc., модель BELSORP-max, Япония) и размерность удельной поверхности приведена в квадратных метрах на грамм, м²/g. Все анализы РФА, ИК-спектроскопии и БЭТ

были произведены трижды, а их результаты и стандартные отклонения значений вычислялись для каждого из результатов.

2.3. Химические характеристики

Детектор энергодисперсионной спектроскопии (SEM/EDS, Hitachi Co., модель S-4700, Япония) подключенный к сканирующему электронному микроскопу использовали для определения элементного химического состава поверхности костного минерала. Соотношение содержания кальция к фосфору Ca/P костного минерала измеряли с помощью масс-спектрометра с индуктивно-связанной плазмой (ICP-MS, PerkinElmer, модель ELAN 6000, США) повторяли трижды, а их результаты и стандартные отклонения значений вычислялись для каждого из результатов.

2.4. Определение остаточных органических соединений

Анализатор белков (Vapodest, Gerhardt Gerhardt GmbH & Co, Германия) работающий по методу Кьельдаля и термогравиметрический анализ (TGA, Mettler-Toledo, модель TGA/DSC 1, США) использовали для определения остаточного содержания органических соединений в костном минерале. Белковый и термогравиметрический анализ помогают получить информацию, связанную с потенциальным содержанием остаточного белкового материала в костном минерале. Образец для термогравиметрического анализа TGA нагревали с комнатной температуры (25 °C) до 1000 °C, со скоростью нагрева 10 °C мин⁻¹, на алюминиевой подложке в потоке азота (N₂), с расходом 50 мл мин⁻¹ [20]. Белковый и термогравиметрический анализ TGA повторяли трижды, а их результаты и стандартные отклонения значений вычислялись для каждого из результатов.

2.5. Статистический анализ

Программа SPSS версии 21 для операционной системы Windows (SPSS, Chicago, IL) применялась для статистического анализа. Непараметрический критерий U Манна-Уитни был определен трижды в отдельных экспериментах для сравнения физико-химических характеристик двух неорганических костных минералов. Статистическая значимость была определена при значении $P < 0.05$.

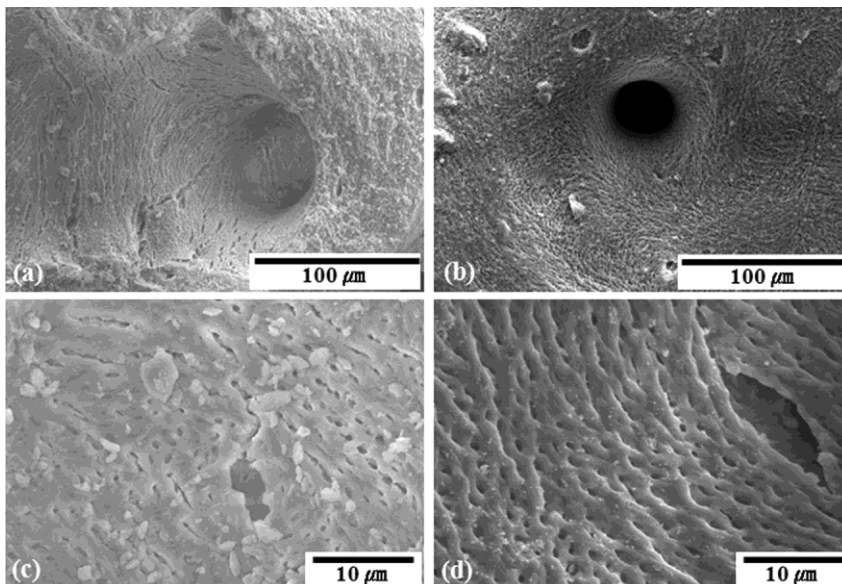


Рис. 1. Электронная микроскопия неорганических костных минералов: а,с– Inter-Oss b,д–Bio-Oss .

3. Результаты исследования

3.1. Физические характеристики

На Рис. 1 представлены снимки сканирующего электронного микроскопа минералов Inter-Oss и Bio-Oss. Рис. 1 подтверждает, что мезопористая микропористая структура отчетливо наблюдается в обоих марках неорганических костных минералов. Средний размер мезопор в минерале Inter-Oss составляет 40–60 нм (Рис. 1(a)), что несколько выше, чем у минерала Bio-Oss (30–40 нм) на Рис. 1(b), однако средний размер микропор в минерале the Inter-Oss составляет менее 1.5 нм (Рис. 1(c)), что несколько меньше, чем в минерале Bio-Oss <3.0 нм (Рис. 1(d)). Более того, средний размер частиц Inter-Oss составляет 1.5–2.5 нм (Рис. 1(c)), что несколько меньше, чем у частиц минерала Bio-Oss с размером частиц 3.0–4.0 нм (Рис. 1(d)), имеющих похожую микропористую структуру.

На рентгенограмме (Рис. 2) обоих образцов неорганических костных минералов есть три преобладающих пика, такие как ($2\theta=32^\circ$), ($2\theta=33^\circ$) и ($2\theta=26^\circ$) относящиеся к синтетическому гидроксиапатиту, который соответствует образцу PDF (Файл дифрактограммы порошка) № 09-0432. Согласно результатам рентгенограммы структура гидроксиапатита в образцах минералов Inter-Oss (Рис. 2(a)) и Bio-Oss (Рис. 2(b)) соответствует фазе мелкокристаллического апатита.

На Рис. 3 показан ИК-спектр двух неорганических костных минералов. На Рис. 3 можно идентифицировать полосы в диапазоне длин волн $1506\text{--}1570\text{ см}^{-1}$, $1400\text{--}1477\text{ см}^{-1}$, и $953\text{--}989\text{ см}^{-1}$ относящиеся к функциональным группировкам CO_3^{2-} -гидроксиапатита в минерале Inter-Oss (Рис. 3(a)) и Bio-Oss (Рис. 3(b)). Кроме того, можно наблюдать валентные колебания гидроксильных групп (OH^-) при длинах волн 3572 см^{-1} и 1638 см^{-1} , ортофосфатной группы PO_4^{3-} в диапазоне $960\text{--}1120\text{ см}^{-1}$, 602 см^{-1} и 570 см^{-1} .

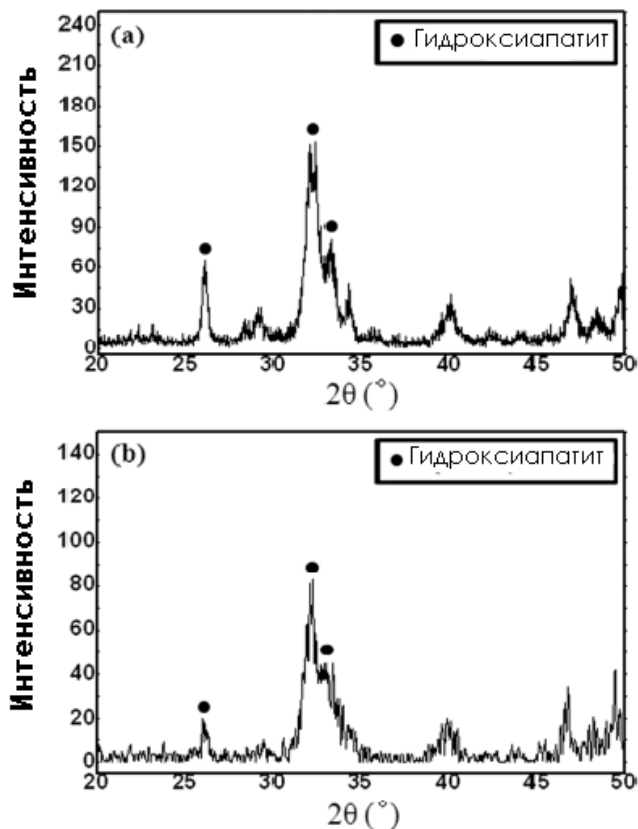


Рис. 2. Рентгенограмма неорганических костных минералов: (a) Inter-Oss и (b) Bio-Oss.

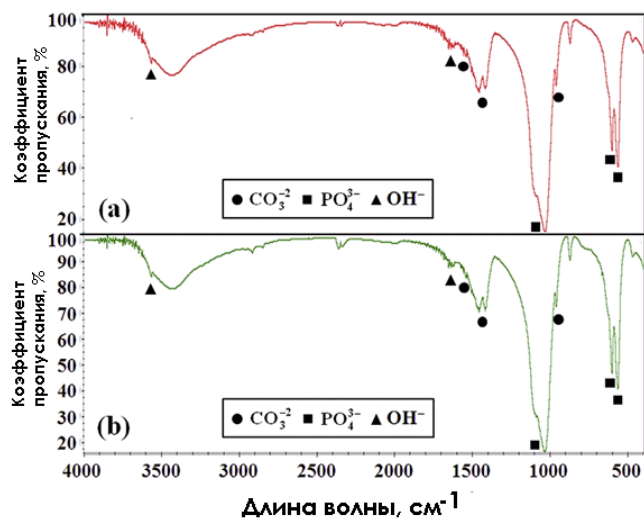


Рис. 3. ИК-спектр Фурье неорганических костных минералов: (a) Inter-Oss и (b) Bio-Oss.

Значение внутренней удельной поверхности обоих неорганических костных минералов изменяли методом БЭТ, значение приведены в Табл. 1. Согласно Табл. 1 средняя удельная внутренняя поверхность составляет $88.2 (\sigma = \pm 0.015) \text{ м}^2 \times \text{гр}^{-1}$ для минерала Inter-Oss, что несколько выше, чем для минерала Bio-Oss с удельной внутренней поверхностью $77.5 (\sigma = \pm 0.021) \text{ м}^2 \times \text{гр}^{-1}$ [21]. Не выявлено большого расхождения значений P ($P = 0.33$, $P > 0.05$) и дисперсии, так как стандартные отклонения при измерении внутренней удельной поверхности в обоих костных минералах очень низкие все три раза и лежат очень близко к среднему значению.

3.2. Химические характеристики

Результаты химического анализа двух неорганических костных минералов полученные с помощью энергорассеивающей рентгеновской спектроскопии EDS представлены на Рис. 4, в Табл. 2 и 3. На рис. 4 представлен спектр химического элементного состава минерала Inter-Oss (Рис. 4(a)) и Bio-Oss (Рис. 4(b)), а значения содержания элементов приведены в Табл. 2 (Inter-Oss) и Табл. 3 (Bio-Oss). Как показано на Рис. 4 и в Табл. 2,3 оба неорганических костных минерала в основном состоят из Ca и P, а среднее значение содержания в каждом из экспериментов более 63 масс.% (Ca) и 33 масс.% (P) соответственно. Другие элементы, кроме Ca и P входящие в состав минералов – Al, Mg, и Na, а их среднее содержание очень низкое и составляет менее 1.7 масс.%. В тоже время в Табл. 4 показано сравнение значений коэффициента P для значений содержания отдельных элементов в химическом составе обоих костных минералов. Тест на непараметрический критерий U Манна-Уитни показывает, что нет значительной разницы в значении коэффициентов P ($P > 0.05$) и они лежат в диапазоне от 0.06 до 0.60 для всех значений содержания химических элементов. Это означает, что химический состав обоих неорганических костных минералов практически идентичен.

Измерение соотношения Ca/P в обоих костных минералах проводили с помощью масс-спектрометрии с индуктивно связанной плазмой ICP-MS, результаты измерения приведены в Табл. 1.

Таблица 1

Значения удельной внутренней поверхности, соотношения содержания Ca/P, содержание остаточного белка в Inter-Oss и Bio-Oss. Измерения проводили методами БЭТ, масс-спектрометрии с индуктивно связанной плазмой и белкового анализа.

	Inter-Oss	Bio-Oss	Значение P
Внутр. Уд. Пов. ($\text{м}^2 \text{гр}^{-1}$) $\pm \sigma$	88.2 0.015	77.5 0.021	0.33
Соотношение Ca/P $\pm \sigma$	1.57 0.002	1.62 0.003	0.20
Остаточный белок (%) $\pm \sigma$	0.04 0.0015	0.118 0.0002	0.72

σ : стандартное отклонение.

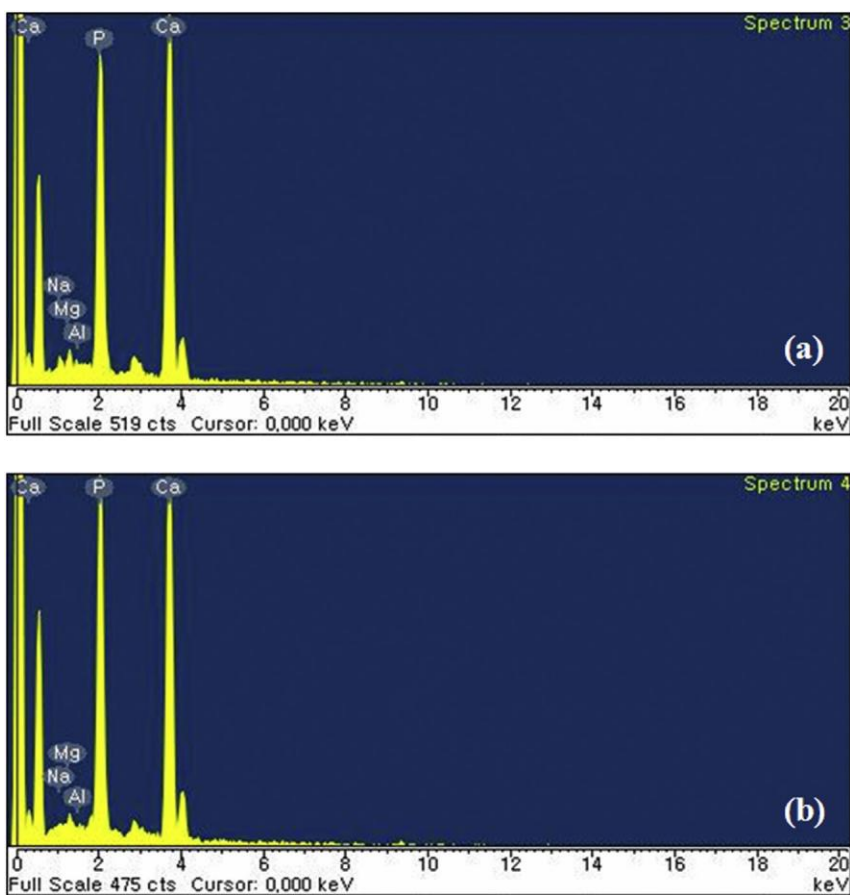


Рис. 4. Спектр EDS элементного состава двух костных минералов: (a) Inter-Oss и (b) Bio-Oss.

Среднее соотношение Ca/P в Inter-Oss и Bio-Oss составляет 1.57 ($\sigma = \pm 0.002$) и 1.62 ($\sigma = \pm 0.003$) соответственно, [21]. Исходя из значения P ($P = 0.20$, $P > 0.05$) соотношение Ca/P в двух неорганических костных минералах практически идентично и разница крайне незначительна. Значение дисперсии, так же как и стандартного отклонения в обоих костных минералах очень низкое, так как все значения содержания элементов Ca и P и соотношение Ca/P, соответственно, измеренные трижды, очень близки к их средним значениям.

3.3. Анализ содержания остаточного белка

Значение содержания остаточного белка в двух неорганических костных минералах получены с помощью белкового анализа и приведены в Табл. 1. Согласно Табл. 1 среднее содержание остаточного белка составляет 0.04 ($\sigma = \pm 0.0015$) % в минерале Inter-Oss, что ниже чем в минерале Bio-Oss 0.118 ($\sigma = \pm 0.0002$) % [21]. Нет значительной разницы в содержании остаточного белка между двумя образцами костных минералов при полученных значениях P ($P = 0.72$, $P > 0.05$).

На Рис. 5 показаны термогравиметрические кривые TGA для двух костных минералов. Согласно Рис. 5 кривая TGA Inter-Oss (Рис. 5(a)) имеет схожий вид с кривой TGA Bio-Oss (Рис. 5 (b)), с выраженной областью плато (крайне низкое содержание белка) в диапазоне от 280 до 550 °C. Средняя потеря массы при прокаливании минерала Inter-Oss составила 3.26% ($\sigma = \pm 0.002$) (H₂O физически и химически связанная) и 3.00% ($\sigma = \pm 0.011$) (реакция декарбонизации CO₂) в диапазоне 25–280 °C и 550–1000 °C соответственно. Средняя потеря масс при прокаливании минерала Bio-Oss составила 2.54% ($\sigma = \pm 0.002$) (H₂O физически и химически связанная) и 2.68% ($\sigma = \pm 0.002$) (реакция декарбонизации CO₂) соответственно в тех же температурных диапазонах. Среднее содержание карбоната соответствующее таким значениям потери CO₂ в минералах Inter-Oss и Bio-Oss составляет 6.82% ($\sigma = \pm 0.002$) и 6.09% ($\sigma = \pm 0.003$) соответственно. Исходя из этого, средняя остаточная масса при 1000 °C двух неорганических костных минералов составила 93.4% ($\sigma = \pm 0.020$) для Inter-Oss (Рис. 5(a)) и 94.2% ($\sigma = \pm 0.015$) для Bio-Oss (Рис. 5(b)). Значения P для сравнения потерь H₂O, CO₂ и содержания карбоната для обоих костных минералов составили 0.18 ($P > 0.05$), 0.14 ($P > 0.05$) и 0.07 ($P > 0.05$) соответственно. Это означает, что

Таблица 2

Элементный химический состав минерала Inter-Oss полученный с помощью энергодисперсионной рентгеновской спектроскопии и EDS.

Элемент	Аппаратное знач. ($\pm \sigma$)	Интенсивность пика. ($\pm \sigma$)	Масс. % ($\pm \sigma$)	Масс. доля % ($\pm \sigma$)	Атомный состав % ($\pm \sigma$)
Na K	0.13 \pm 0.002	1.0461 \pm 0.0002	1.65 \pm 0.006	0.59 \pm 0.002	2.56 \pm 0.002
Mg K	0.11 \pm 0.002	0.9132 \pm 0.0001	1.56 \pm 0.004	0.47 \pm 0.003	2.29 \pm 0.002
Al K	0.01 \pm 0.001	0.9883 \pm 0.0002	0.07 \pm 0.002	0.39 \pm 0.002	0.10 \pm 0.005
P K	3.80 \pm 0.015	1.5103 \pm 0.0003	33.21 \pm 0.026	1.03 \pm 0.002	38.36 \pm 0.003
Ca K	5.01 \pm 0.021	1.0408 \pm 0.0001	63.51 \pm 0.015	1.13 \pm 0.003	56.69 \pm 0.010
Totals	100.00				

σ : стандартное отклонение.

Таблица 3

Элементный химический состав минерала Bio-Oss полученный с помощью энергодисперсионной рентгеновской спектроскопии EDS

Mg K	0.09±0.002	0.9169±0.0002	1.35±0.007	0.48±0.001	2.00±0.015
Al K	0.01±0.001	0.9938±0.0001	0.08±0.002	0.39±0.003	0.11±0.002
P K	3.57±0.002	1.5151±0.0002	33.40±0.007	1.08±0.001	38.75±0.002
Ca K	4.70±0.019	1.0412±0.0003	64.10±0.010	1.18±0.002	57.47±0.002
Totals	100.00				

σ: стандартное отклонение

содержание остаточных компонентов, таких как H₂O, CO₂ и карбоната после очистки исходного костного сырья практически идентично. Значения дисперсии, так же как и стандартного отклонения в обоих костных минералах очень малы, так как полученные трижды значения содержания остаточного белка, H₂O, CO₂, карбоната и остаточной массы при термогравиметрическом анализе TGA соответственно, крайне близки к средним значениям.

4. Обсуждение результатов

Материал Bio-Oss относится к неорганическим костным трансплантатам (ксенотрансплантатам) получаемым из костей коров и предназначен для заполнения дефектов костей [22] благодаря своим остеоиндуктивным свойствам. В частности, минерал Bio-Oss рассматривается в качестве природного апатита, состоящего из природного минерала с губчатой структурой и высокой чистотой после удаления органических включений из костей коров при низкотемпературном отжиге в диапазоне температур 300-350 °C с химической обработкой [23]. Физико-химические свойства неорганического костного минерала производимого таким методом благоприятно влияют на биологические реакции, такие как скорость распада связанная с восстановлением кости [24-26], остеогенез [27], снижает риск развития остеомы [24,28]. В исследовании произведено сравнение физико-химических характеристик неорганического костного минерала Inter-Oss, получаемого путем химической обработки и низкотемпературного обжига с крайне низкой скоростью подъема температуры, с минералом Bio-Oss.

Оба неорганических минерала при исследовании через сканирующий электронный микроскоп и с помощью метода БЭТ имеют мезопористую и микропористую структуру. Размер, форма и распределение мезопор и микропор в минерале Inter-Oss в основном идентично Bio-Oss. Присутствие микропор в зернах минерала увеличивает удельную внутреннюю поверхность неорганического костного минерала, поддерживая остеоиндукцию, стимулируя рост костной ткани внутри пор [24]. Исходя из результатов анализа БЭТ, внутренняя удельная поверхность Inter-Oss и Bio-Oss находится в верхних пределах диапазона для человеческой костной ткани (50-100 м² гр⁻¹). Поэтому, выдвинуто предположение, что большая внутренняя удельная поверхность обоих минералов тесно связана с повышенной плотностью микропор. В частности, микропоры позволяют проникать жидкостям организма в имплант [29] и могут влиять на скорость резорбции и растворения [30-34].

РФА и ИК-Фурье спектроскопия показали, что оба костных минерала состоят из гидроксиапатита. Рентгенограмма минерала Inter-Oss

похожа на рентгенограмму минерала Bio-Oss, и показывает присутствие кристаллов апатита полученного при низкотемпературном отжиге. Степень кристалличности апатита влияет на растворимость и разложение биоматериалов, что другими словами значит – мелкокристаллический гидроксиапатит лучше растворим [35]. Поэтому, считается, что оба неорганических костных минерала имеют хорошую растворимость. Согласно ИК-Фурье анализу спектрограммы обоих минералов похожи и не на них не идентифицируется присутствие иных химических группировок, кроме тех, которые относятся к гидроксиапатиту. Необходимо отметить – низкая интенсивность и фактически отсутствие пика относящегося к ковалентной связи O–H, что является нормой для гидроксиапатитов, при длине волны 3572 см⁻¹ и 632 см⁻¹, подтверждает низкую степень кристалличности двух неорганических костных минералов.

Исследование методами энергодисперсионной спектроскопии и масс-спектрометрии с индуктивно-связанной плазмой показали, что Ca и P являются основными элементами, составляющими человеческую кость. Значение соотношения Ca/P двух костных минералов определили с помощью масс-спектрометрии с индуктивно-связанной плазмой, как близкое к теоретическому 1.67 и характерное для синтетического гидроксиапатита. Соотношение Ca/P так же как и степень кристалличности связано со скоростью растворения или биоабсорбции гидроксиапатитового материала [35].

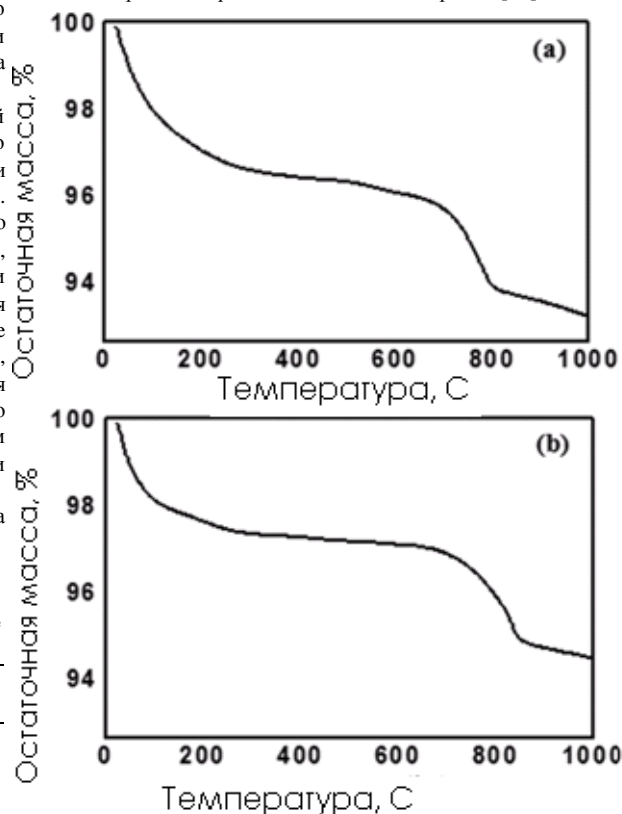


Рис. 5. Кривая термогравиметрии двух неорганических костных минералов: (a) Inter-Oss и (b) Bio-Oss.

Таблица 4

Значения Р для сравнения содержания отдельных элементов в химическом составе минералов Inter-Oss и Bio-Oss.

Элемент	Аппарат. Знач.	Интенсивность пика.	Масс, %	Массовая доля %	Атомный состав %
Na K	0.57	0.25	0.35	0.33	0.29
Mg K	0.50	0.26	0.24	0.34	0.19
Al K	0.50	0.25	0.50	0.36	0.43
P K	0.09	0.19	0.21	0.26	0.20
Ca K	0.07	0.24	0.14	0.24	0.16

Содержание остаточного белка в минерале Inter-Oss согласно белковому анализу несколько ниже по сравнению с минералом Bio-Oss. Предположительно это связано с тем, что костный минерал Inter-Oss имеет большую степень очистки благодаря большому по продолжительности отжигу с крайне низкой скоростью подъема температуры. Потеря массы согласно термогравиметрической кривой у двух минералов свидетельствует о присутствии остаточных органических соединений, но предположительно их содержание крайне мало, так как на кривой есть область плато. Эффект связан с разложением карбоната в костном минерале, который происходит при температуре выше 400 °C [9,35]. Поэтому, остаточное содержание карбоната в обоих костных минералах наблюдается из-за низкотемпературного отжига. Этот карбонат термоаналитически определяется соотношением молярных масс CaCO_3 к CO_2 : $\text{CaCO}_3=2.273 \times \text{CO}_2$ [36].

5. Заключение

В данной статье обобщены сравнительные исследования физико-химических характеристик минералов Inter-Oss и Bio-Oss, губчатых костных минералов из костей коров для заполнения пустот в костных тканях при стоматологических хирургических вмешательствах. Стоит отметить, что минерал Bio-Oss успешно применяется в реальных клинических условиях в течение последнего десятилетия. Химические и физические характеристики минералов Inter-Oss и Bio-Oss идентичны. Согласно результатам исследований в данной статье, стоит ожидать, что минерал Inter-Oss будет эффективно использоваться наравне с минералом Bio-Oss в качестве трансплантата для заполнения пустот в костных тканях при стоматологических хирургических вмешательствах.

Список литературы

- [1] C.G. Finkemeier, J. Bone Jt. Surg. Am. 84 (2002) 454.
- [2] C.R. Galia, A.L. Lourenço, R. Rosito, C.A.S. Macedo, L.M.A.Q. Camargo, Rev. Bras.Ortop. 46 (2011) 444.
- [3] J.M. Rueger, Orthopäde de 27 (1998) 72.
- [4] M. Böhner, Injury 31 (2000) D37.
- [5] J.C. Le Huec, D. Clement, E. Lesprit, J. Faber, Eur. J. Orthop. Surg. Traumatol. 10(2000) 223.
- [6] M. Böhner, Eur. Spine J. 10 (2001) S114.
- [7] A.S. Greenwald, S.D. Boden, V.M. Goldberg, Y. Khan, C.T. Laurencin, R.N. Rosier, J. Bone Jt. Surg. 83A (2001) 98.
- [8] F.C. den Boer, B.W. Wippemann, T.J. Blokhuis, P. Patka, F.C. Bakker, H.J.T.M. Naaman, J. Orthop. Res. 21 (2003) 521.
- [9] D. Tadic, M. Epple, Biomaterials 25 (2004) 987.
- [10] C.T. Laurencin, Y. Khan, Bone grafts and bone graft substitutes: a brief history, in: C.T. Laurencin (Ed.), Bone Graft Substitutes, ASTM International, Bridgetown, NJ, 2003.
- [11] J.G. Seiler, J. Johnson, J. South Orthop. Assoc. 9 (2000) 91.
- [12] M. Lind, N. Krarup, S. Mikkelsen, E. Horlyck, J. Arthroplasty 17 (2002) 158.
- [13] S.H. Palmer, C.L. Gibbons, N.A. Athanasou, J. Bone Jt. Surg. Br. 81 (1999) 333.
- [14] S. Sugihara, A.D. van Ginkel, T.U. Jiya, B.J. van Royen, P.J. van Diest, P.I. Wuisman, J. Bone Jt. Surg. Br. 81 (1999) 336.
- [15] R.C. Oliveira, C.M. Sicca, T.L. Silva, T.M. Cestari, D.T. Oliveira, M.A.R. Buzalaf, Rev. FOB 7 (1999) 85.
- [16] G.S. Johnson, M.R. Mucalo, M.A. Lorier, J. Mater. Sci. Mater. Med. 11 (2000) 427.
- [17] J.D. Termine, E.D. Eanes, D.J. Greenfield, M.U. Nylen, R.A. Harper, Calcif. Tissue Res. 12 (1973) 73.
- [18] L. Tougaard, N. Toffner Clausen, K. Grunnet, J. Thode, Scand. J. Clin. Lab. Invest 44 (1984) 267.
- [19] I.A. Anderson, M.R. Mucalo, G.S. Johnson, M.A. Lorier, J. Mater. Sci. Mater. Med. 11 (2000) 743.
- [20] J.J. Lim, Thermogravimetric analysis of human femur bone, J. Biol. Phys. 3(1975) 111e129.
- [21] S.I. Yeo, S.H. Park, W.C. Noh, J.W. Park, J.M. Lee, J.Y. Suh, J. Korean Acad. Periodontol. 39 (2009) 149.
- [22] N.U. Zitzmann, R. Naef, P. Scharer, Int. J. Oral Maxillofac. Implants 12 (1997) 844.
- [23] S.R. Thaller, J. Hoyt, A. Dart, K. Bojeson, H. Tesluk, J. Craniofac. Surg. 5 (1994) 242.
- [24] J. Werner, B. Linner-Krcmar, W. Friess, P. Greil, Biomaterials 23 (2002) 4285.
- [25] R.Z. Le Geros, Calcium phosphate biomaterials: preparation, properties and biodegradations, in: D.L. Wise (Ed.), Encyclopedic Handbook of Biomaterials and Bioengineering, vol. 1 Marcel Dekker, New York, 1995, pp. 1429e 1463 pt.A.
- [26] T. Accorsi-Mendonça, M.B. Conz, T.C. Barros, L.A. de Sena, G. de Almeida Soares, J.M. Granjeiro, Braz. Oral Res. 22 (2008) 5.
- [27] M.F. Sciadini, J.M. Dawson, K.D. Johnson, J. Orthop. Res. 15 (1997) 844.
- [28] S.N. Kalkura, T.K. Anee, M. Ashok, C. Betzel, Biomed. Mater. Eng. 14 (2004) 581.
- [29] S.E. Lobo, T.L. Arinze, Materials 3 (2010) 815.
- [30] O. Gauthier, J.M. Bouler, E. Agudo, R.Z. Legeros, P. Pilet, G. Daculsi, J. Mater. Sci. Mater. Med. 10 (1999) 199.
- [31] K.A. Hing, L.F. Wilson, T. Buckland, Spine J. 7 (2007) 475.
- [32] R.Z. Legeros, S. Lin, R. Rohanizadeh, D. Mijares, J.P. Legeros, J. Mater. Sci. Mater. Med. 14 (2003) 201.
- [33] K.A. Hing, B. Annaz, S. Saeed, P.A. Revell, T. Buckland, J. Mater. Sci. Mater. Med. 16 (2005) 467.
- [34] M. Mastrogiacomo, S. Scaglione, R. Martinetti, L. Dolcini, F. Beltrame, R. Cancedda, R. Quarto, Biomaterials 27 (2006) 3230.
- [35] R.Z. Le Geros, Calcium Phosphates in Oral Biology and Medicine, in: Mono-graphs in Oral Science, vol. 15, Karger, Basel, 1991.
- [36] D. Benke, A. Olah, H. Möhler, Biomaterials 22 (2001) 1005.