토끼 두개골에서 새로 개발된 biphasic calcium phosphate의 골형성 효과 : A pilot study

엄유정[1], 홍지연[1], 김성태[1], 이용호[2], 박상현[2], 박준효[3], 조규성[1], 김종관[1], 최성호[1*]
1. 연세대학교 치과대학 치주과학교실, 치주조직재생연구소
2. Dentium Co.
3. Genoss Co.

Bone formation of newly developed biphasic calcium phosphate in rabbit calvarial defect model : A pilot study

Yoo-Jung Um[1], Ji-Yeon Hong[1], Sung-Tae Kim[1], Yong-Ho Lee[2], Sang-Hyun Park[2], Sun-Hyo Park[3], Kyoo-Sung Cho[1], Jung-Kiu Chai[1], Chong-Kwan Kim[1], Seong-Ho Choi[1*]
1. Department of Periodontology, Oral Science Research Center, College of Dentistry, Yonsei University
2. Dentium Co.
3. Genoss Co.

ABSTRACT

Purpose: Biphasic calcium phosphates have been of great interest recently. Mixing adequate ratios of hydroxyapatite(HA) and beta-tricalcium phosphate(βTCP) allowed to control the resorption rate without distorting its osteoconductive property. This study evaluated the bone formation effect of newly developed biphasic calcium phosphate(BCP) in calvarial defect of rabbits.

Materials and Methods: 6 male New Zealand rabbits were used. Four defects with 8mm in diameter were created on each animal. BCP with HA/ βTCP ratio of 7:3 and particle size of 0.5~1.0 mm was used as the test group and bovine bone with 0.25~1.0 mm particle size, as the control group. Both test and control group materials were randomly implanted in the calvarial defects and were covered witha polymer membrane. The animals were sacrificed after 12, 24, and 48 weeks of implantation under general euthanasia. Resin blocks were obtained and were stained by masson's trichrome for histological observation.

Results: Overall results were uneventful without any defect exposure or inflammation. The amount of new bone formation and bone maturity increased with increase in healing period at both groups. New bone in test group was mostly formed along the material particle surrounded by osteoblasts, and observation of osteoblastic stream was also present. Bone maturity increased as it was closer to thedefect margins. Under the same healing period, the test group showed more bone formation than the control group with more stable bovine bone particles remaining even after 48 weeks, whereas considerable resorption took place in BCP. Almost total defect closure was observed in test group with new bone formation in the central part of the defect. However, limited new bone formation was observed in the control group.

Conclusion: Within the limits of the study, the present study reveals the newly developed BCP to be a good osteoconductive material. However, further studies are needed to be conducted in a different study model with a larger sample size.

(J Korean Acad Periodontol 2008;38:163-170)

KEY WORDS: Hydroxyapatite; beta-tricalcium phosphate; bone graft; calvarial defect.

서론

치주질환에 의해 파괴된 치주조직을 재생시키기 위해 다양한 술식들이 이용되고 있는데, 이 중 골이식과 조직유도재생술이 가장 많이 응용되고 있다[1]. 골이식재는 그 공급원에 따라 자가골, 동종골, 이종골, 합성골으로 구분할 수 있다[1-3]. 자가골은 골형성, 골유도, 골전도를 모두 갖춘 가장 이상적인 이식재이며 임상적으로도 성공적인 결과를 나타내지만, 채취할 수 있는 양이 한정되고, 부가적인 수술 부위의 필요, 치근 흡수 등의 단점들을 가지고 있다[1,2]. 이런 환자의 불편감을 감소시키고 단점들을 보안하기 위해서 동종골,

Corresponence: Seong-Ho Choi
Department of Periodontology, College of Dentistry, Yonsei University, 134 Shinchon-dong, Seodaemun-gu, Seoul, 120-752, Korea
e-mail: shchoi726@yuhs.ac., Tel: 82-2-2228-3189, Fax:82-2-392-0398.
* 이 논문은 2005년도 정부(교육과학기술부 기초의과학 연구사업)의 재원으로 지원을 받아수행된 연구임(R13-2003-013-02001-0).
접수일: 2008년 5월 16일; 채택일: 2008년 6월 7일

이종골, 합성골이 널리 사용되고 있다. 동종골은 광범위한 골결손 부위에 적용 가능하지만 공여자의 골 상태에 따라 골형성 효과가 좌우된다고 보고되고 있다[4]. 이종골은 주로 송아지 뼈를 이용하는데 생물학적으로 안정적이며 사람의 해면골과 유사하지만[5] 다른 골이식재에 비해 긴 흡수 시간을 가진다[6,7].

합성골 이식재는 calcium phosphate ceramics, calcium carbonate, polymer, bioactive glass ceramics 등으로 생체 친화성이 우수하고, 재료 공급도 쉽지만 이식재의 조기 흡수, 낮은 골형성 능력이 있어서 이 재료들 또한 장, 단점들을 가지고 있다[8]. Hydroxyapatite(HA)와 beta-tricalcium phosphate(β-TCP)는 calcium phosphate ceramics 중 대표적인 재료들이다. 두 재료들은 모두 골형성을 나타내지만 이들을 단독적으로 사용하였을 때에는 좋은 결과를 나타내지 못하였다[9]. HA는 새로운 골을 형성하기 좋은 비계로 이용될 수 있지만 재생 능력이 떨어진다고 보고되고 있다. 반면 β-TCP는 치주 결손부에 이식시 골이 형성되었으나 체액에 의해 너무 빨리 흡수되는 성질을 가지고 있어 결과를 예측할 수 없다[10-12]. 그러므로 비교적 안정적인 HA와 더 생체활성(bioactive)적인 β-TCP의 합성은 HA와 β-TCP의 장점들을 이용한 골대체재를 제공한다[13,14]. 그러므로 최근에는 biphasic한 calcium phosphate들이 개발되고 있다. Biphasic calcium phosphate(BCP)는 생체활성, 생분해성 및 골전도성을 지니고 있어 조골세포의 부착을 지지하는 비계 역할과 동시에 재료가 생분해되면서 새로운 골의 침착을 일으키게 한다[10,15]. Fleckenstein 등[16]은 macroporous biphasic HA/TCP는 견고한 공간 유지 역할과 골형성을 위한 적절한 pore size를 가지고 있어 새로운 골형성을 향상시킨다고 하였다. 또, HA/TCP 합성골은 골전도성인 성질과 흡수 가능한 특징을 가지고 있어 골이식재로 적절히 이용될 수 있다고 보고하였다. Gauthier 등[17]은 injectable한 calcium phosphate를 발치와에 이식한 경우 골형성 증가가 매우 효과적이었고 성견의 발치와의 치조골 흡수를 방지할 수 있다고 하였다.

이번 연구에 사용된 새로 개발된 biphasic calcium phosphate(BCP)는 HA와 β-TCP이 7:3 비율로 혼합된 골전도성 골이식재이다. 77%의 높은 기공률을 가지며 인체의 뼈와 유사한 구조를 가지고 3차원적으로 연결된 크고 작은 기공들 내부로 신생골의 형성이 일어난다고 보고되고 있다[18].

본 연구는 토끼의 두개골에 형성된 골결손부에 새로 개발된 BCP와 이종골 이식재를 이식한 후 시간경과에 따른 골형성 효과를 조직학적으로 비교 분석하였다.

재료 및 방법

1. 연구재료

1) 실험 동물

본 연구에서는 생후 9~20개월된 무게 3.0~3.5 kg 사이의 6마리의 토끼(New Zealand white male rabbit)를 사용하였다.

2) 실험 재료

실험에 사용된 골이식재로는 0.5~1.0 mm 입자 크기를 가진 BCP(OSTEON™, Genoss, Co., Ltd, Suwon, Korea)와 0.25~1.0 mm 입자 크기를 가진 bovine bone(Bio-Oss, Geistlich-Pharma, Wolhusen, Switzerland)을 사용하였다. 차단막으로는 흡수성 Polymer membrane(Genoss, Co., Ltd, Suwon, Korea)을 이용하였다.

2. 연구방법

1) 실험군 설정

두개골 결손부에 bovine bone을 이식한 군을 대조군으로, 새로 개발된 BCP를 이식한 군을 실험군으로 설정하였다. 각 군은 수술 후 12주, 24주, 28주의 치유기간을 두고 희생시켜 관찰하였으며, 각 군별로 2마리씩 배정하여 모두 6마리를 사용하였다.

2) 결손부 형성 및 외과적 처치

각 토끼에 Ketamine hydrochloride와 xylazine을 이용하여 전신 마취시켰다. 두부제모를 시행하고 povidine iodine으로 소독한 후 고정하였다. 수술 부위는 2% lidocaine으로 침윤 마취한 후 전두골 전방부에서 후방부까지 정중부를 따라 두피를 절개하여 두개골의 상면을 노출시켰다. 노출된 두개골 상면에 내경 8 mm trephine bur를 이용하여 지름 8 mm의 원형 결손을 4개를 형성하였다(Fig. 1). 이때 두개골의 열 손상을 방지하기 위해 충분한 식염수로 관주하였다. 형성된 골 결손부에 각각의 실험재료(OSTEON™, Genoss, Co., Ltd, Suwon, Korea, Bio-Oss, Geistlich-

Pharma, Wolhusen, Switzerland)를 이식하고 흡수성 차단막인 polymer membrane으로 덮었다 (Fig. 2,3). 두피를 덮고 4-0 흡수성 봉합사로 봉합하고, 1주 후 발사하였다.

동물들은 술 후 12, 24, 48주에 희생하여 두개골을 적출하였다.

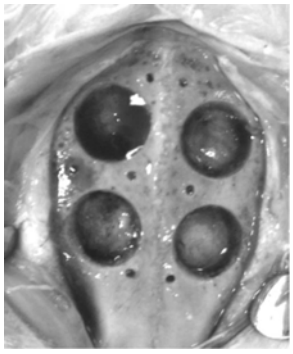

Figure 1. *Calvarial defect formation.*

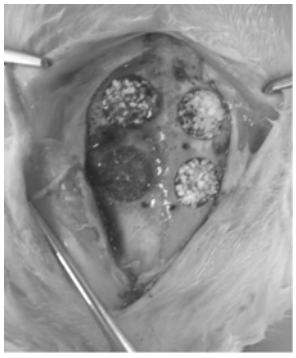

Figure 2. *Bone material implantation.*

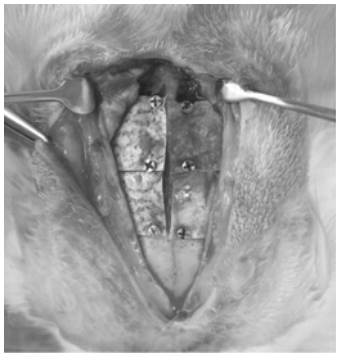

Figure 3. *Polymer membrane application.*

3. 평가방법

절제된 조직을 10% 중성 포르말린 용액으로 고정시킨 후 파라핀에 포매하였다. 7㎛ 두께로 절단하여 4개의 박편을 제작하였다. Masson's trichrome으로 염색 후 광학 현미경으로 조직학적 관찰을 하였다.

결과

1. 대조군(Bio-Oss)

신생골은 이식된 이식재 주변과 이식재 사이 사이에 관찰되었다. 결손 부위 형태는 모든 치유기간에서 비교적 안정적인 형태를 보였으며 이식된 골 또한 결손부 내에서 안정적이었다. 이식된 골 주변의 결합조직은 비교적 잘 정돈되었다. 12주, 24주, 48주로 시간이 경과함에 따라 형성된 신생골의 양은 증가하였으나 실험군에 비해서는 적었다. 48주 소견에서는 결손부 변연에서는 기존골과 혼재된 양상이 보였으나 대부분의 결손부는 신생골로 대체되지 않았다(Fig. 4, 5, 6).

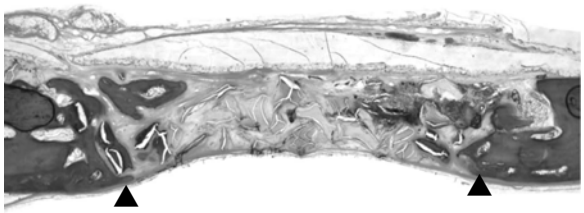

Figure 4. *Histological section of control group (bovine bone) at 12 weeks(× 12.5, Masson's trichrome). Arrow head; defect margin.*

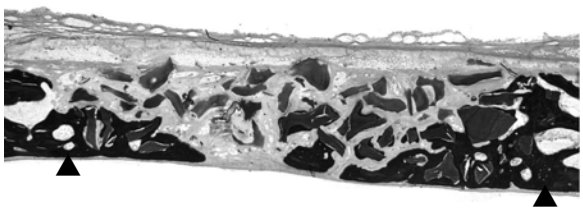

Figure 5. *Histological section of control group (bovine bone) at 24 weeks(× 12.5, Masson's trichrome). Arrow head; defect margin.*

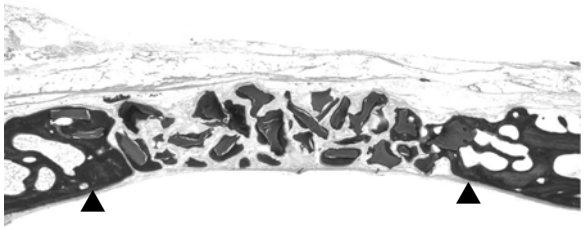

Figure 6. *Histological section of control group (bovine bone) at 48 weeks (× 12.5, Masson's trichrome). Arrow head; defect margin.*

2. 실험군(Osteon)

신생골은 이식된 BCP 주변과 BCP 사이 사이에서 관찰되었다. 12주 때 소견에서는 비교적 많은 양의 잔존된 BCP가 결손부 내에 관찰되었고 형성된 신생골은 제한적이었다. BCP 주변에 형성된 신생골은 조골세포가 관찰되었으며 osteoblastic stream도 나타났다. BCP와 멀리 떨어진 신생골에서는 골 성숙과 골 개조가 일어나는 부분도 관찰되었다. 24주, 48주 소견에서는 잔존된 BCP의 양이 감소하고 새로 형성된 신생골의 양이 증가하는 소견을 보였다. 24주 소견에서는 BCP 사이 사이에 형성된 신생골은 서로 가교를 형성하는 양상을 보였으며 결손부 변연에서는 기존골과 혼재되는 양상을 보였다. 또한 신생골의 성숙도 또한 증가하여 골수와 층판골 형성이 관찰되었다. 48주 소견에서는 흡수된 BCP의 양은 증가하였고 신생골 형성은 12, 24주에 비해 증가하였다. 흡수된 BCP 주변으로 더 많은 신생골 형성이 관찰되었고 골형성이 계속 진행되는 소견을 보였다. 결손부 변연에 형성된 신생골은 대부분 기존골과 비슷한 골밀도를 보였고 골막과 인접한 부분에서는 결손부가 신생골로 채워진 소견을 나타냈다. 그러나 12주와 24주 소견에 비해 결손부가 다소 수축된 소견이 관찰되었다(Fig. 7, 8, 9).

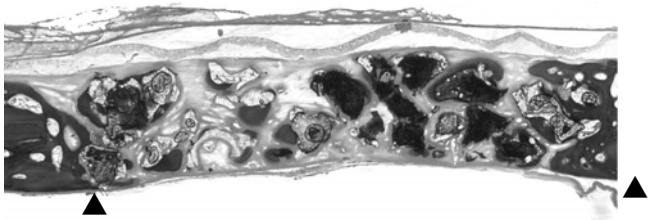

Figure 7a. *Histological section of test group (BCP) at 12 weeks(× 12.5, Masson's trichrome). Arrow head; defect margin*

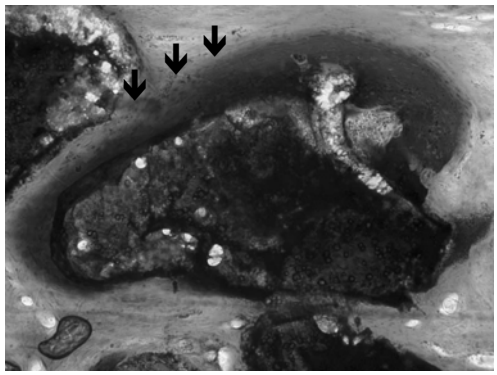

Figure 7b. *Higher magnification of test group presenting new bone with osteoblastic stream (arrow) around BCP particle (× 100, Masson's trichrome).*

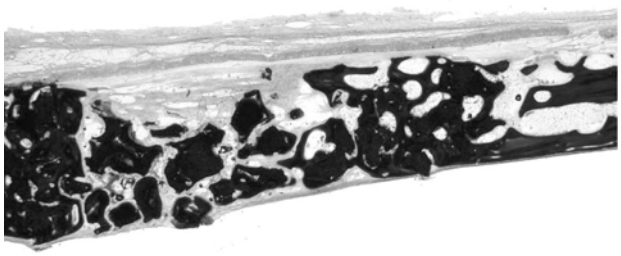

Figure 8. *Histological section of test group (BCP) at 24 weeks (× 12.5, Masson's trichrome). Arrow head; defect margin.*

Figure 9a. *Histological section of test group (BCP) at 48 weeks(× 12.5, Masson's trichrome). Arrow head; defect margin.*

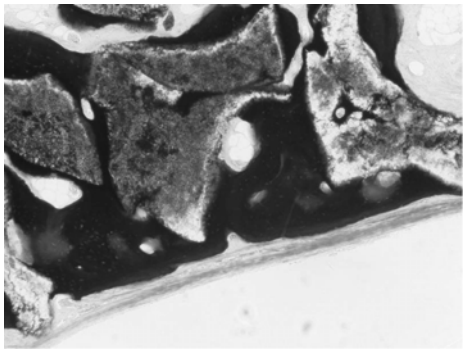

Figure 9b. *Higher magnification of test group showing bone bridging (arrow) between newly formed bone (× 100, Masson's trichrome).*

고찰

골이식술은 치주질환에 의해 상실된 치주조직을 회복시키거나 임플란트 식립 부위에 소실된 골조직을 재건하기 위해 사용될 수 있다. 자가골을 비롯해 많은 골 이식재들이 개발되어 왔고 그 임상 결과들이 보고되고 있다[1].

이 연구의 목적은 새로 개발된 biphasic HA/β-TCP 골이식재의 골 형성 능력을 조직학적으로 평가하고자 하였다. HA와 β-TCP를 적절히 혼합한 biphasic calcium phosphate ceramics은 골전도성의 성질 변화 없이 용해도를 조절할 수 있는 골 대체제의 개발을 가능케 하였다[10,13,19]. Biphasic calcium phosphates(BCP)의 골전도성은 여러 연구들에 의해 보고되었다. Nery 등[13]은 치주 결손부에 이식한 BCP 주변으로 새로운 골이 관찰되었다고 하였고 Hashimoto 등[20]은 BCP 주변으로 활성적인 골형성과 osteoid가 관찰되었다고 하였다. Biphasic calcium phosphate의 용해도는 HA/TCP ratio에 의해 결정되는데[21] 이번 연구에서는 HA/TCP ratio를 7:3으로 한 새로 개발된 BCP를 사용하였다. 이 재료의 전자현미경 소견을 보면 서로 연결된 망상구조로 300~500 m의 pore 크기를 가지고 안정적인 HA 표면에 β-TCP가 코팅된 소견으로 보여주고 있다. 이런 형태는 사람의 해면골과 유사하고 골세포의 이동이 가능한 pore 크기와 porosity를 제공한다[18].

본 연구의 조직학적 소견을 보면 두 실험군 모두 염증 반응 없이 잘 치유되었다. BCP로 이식된 군은 bovine bone으로 이식된 군보다 신생골 형성과 골 성숙이 모든 치유기간에서 빠르게 나타나는 소견을 보였다(Fig. 4, 7). 뿐만 아니라 48주 때 BCP 소견의 경우 결손부의 수축이 관찰되었지만 bovine bone으로 이식된 군은 비교적 안정적인 결손부 형태를 유지하는 것을 볼 수 있었다(Fig. 6, 9). 이는 bovine bone의 느린 흡수기간 때문에 잔존된 이식재가 많아 결손부의 공간을 유지하는 반면에 신생골 형성은 적게 이루어진 것으로 보인다. 유 등[22]의 연구에서도 비슷한 결과를 보고하였고, Bio-oss의 느린 흡수기간은 여러 임상연구에서도 이미 발표된 바가 있으며[23-25], Stravropoulos 등[26]은 쥐의 두개골 모델에서 차단막만 사용한 경우보다 탈단백우골을 부가적으로 사용하였을 때 신생골 생성이 제한적이었고 오히려 신생골 형성의 방해를 주거나 정지시킨다고 하였다. 그러나 탈단백우골의 흡수 여부는 아직 논란의 여지가 많은 부분이다[7,27-30].

이식된 BCP는 시간경과에 따라 흡수되어 신생골로 대체되는 것이 관찰되었고 골 결손부 또한 시간이 경과됨에 따라 많이 채워진 소견을 나타냈다(Fig. 7, 8, 9). BCP 주변의 고배율 소견에는 이식재 주변으로 조골세포가 관찰되며 osteoblastic stream이 관찰된다(Fig. 7a). 또, BCP 주변에 형성된 신생골은, 12주 때는 이식재 주변에서만 관찰되었지만 시간이 경과됨에 따라 이식재 주변으로 형성된 신생골끼리 골 가교를 형성하는 소견도 관찰되었으며 이식재와 멀리 떨어져 있는 신생골에서는 reversal line도 관찰되는 등 성숙된 골의 소견을 나타냈다(Fig. 9b).

이식된 BCP의 흡수 양상은 파골세포나 다형핵세포들에 의해 흡수되는 것보다 BCP가 용해되어 흡수되는 양상을 보였다. Calcium phosphate ceramics의 분해는 물리화학적으로 용해(physico-chemical dissolution)되거나 파골세포 또는 대식세포의 작용으로 작은 형태로 분해(disintegration)된다. Calcium phosphate ceramics 표면의 물리화학적인 용해는 Ca^{2+}를 세포 외로 배출시켜 파골세포의 역할을 저해시키는데[14,19], 본 연구에 사용된 BCP 주변에 파골세포나 다형핵세포가 관찰되지 않은 이유인 것으로 사료된다. BCP의 흡수는 시간이 경과됨에 따라 증가하였고 48주 후에는 잔존된 BCP 이식재가 감소하고 형성된 신생골의 양이 증가된 것이 관찰된다. 이런 조직학적 소견은 BCP를 이용한 다른 연구결과와 비슷한 결과를 나타낸다[31-33]. 그러나 결손부의 형태는 12주, 24주 소견에 비해 다소 수축된 상태였다. 이는 이식된 BCP가 흡수되면서 결손부의 공간유지를 못하였고 상부의 연조직이 치유되면서 생기는 압축력의 결과, 결손부가 수축된 것으로 본다. 이와 더불어, 이식재 위에 사용된 흡수성 차단막이 48주 후에는 거의 흡수되어 있는 소견으로 보아 이 역시 결손부의 수축을 일으키게 한 또 하나의 원인이라고 사료된다. 그러나 형성된 골의 양이나 질은 같은 치유기간 내에서 관찰했을 때 BCP가 bovine bone보다 더 많이 형성되었고 골의 성숙도 또한 층판골과 골수가 나타나는 등 진행된 소견을 나타냈다(Fig. 6, 9).

Kim 등[18]은 본 연구에 사용된 BCP를 상악동이식술에 적용 후 조직학적 및 조직계측학적으로 관찰하였다. 이식된 BCP는 시간경과에 따라 새로 형성된 신생골/이식된 BCP의 비율이 높게 나타났다. 조직학적 소견에서는 BCP 주변으로 조골세포의 증식과 osteoid이 관찰되었고 6개월 뒤에는 층판골의 관찰과 두꺼워진 신생골의 소견을 나타냈는데 이는 본 실험의 조직학적 결과와 유사하다.

결론적으로, 새로 개발된 BCP는 시간이 경과함에 따라 잔존된 BCP는 감소하고 신생골 양이 증가하는 것으로 보아 좋은 골전도성 재료인 것을 확인할 수 있었다. 새로 개발된 BCP는 대조군인 bovine bone보다 같은 치유 기간 내에서 더 많은 신생골을 형성하였으나, 시간이 경과함에 따라 결손부의 수축이 일어나 더 많은 골형성에 제한이 있었을 것으로 사료된다. 그러므로 다른 실험 모델에서의 비교연구가 추가적으로 필요할 것이다. 또한 이번 연구는 비교적 적은 개체수로 시행된 예비 실험이었기에 보다 더 많은 개체수로 시행한 연구가 진행될 필요가 있을 것으로 사료된다.

참고문헌

1. Wang H, Greenwell H, Fiorellini J, et al. Periodontal regeneration. J Periodontol 2005;76:1601-1622.
2. Hoexter DL. Bone regeneration graft materials. J Oral Implantol 2002;28:290-294.
3. Rosen PS, Reynolds MA, Bowers GM. The treatment of intrabony defects with bone grafts. Periodontol 2000 2000;22:88-103.
4. Kim SH, Kim CK, Chai JK, Cho KS. Clinical study on therapeutic effects of decalcified freeze dried bone allograft in intrabony defects. J Korean Acad Periodontol 1994; 24:618-633.
5. Pinholt EM, Bang G, Haanaes HR. Alveolar ridge augmentation in rats by Bio-Oss. Scand J Dent Res 1991;99: 154-161.
6. Piattelli M, Favero GA, Scarano A, et al. Bone reactions to anorganic bovine bone (Bio-Oss) used in sinus augmentation procedures: a histologic long-term report of 20 cases in humans. Int J Oral Maxillofac Implants 1999;14:835-840.
7. Sartori S, Silvestri M, Forni F, et al. Ten-year follow-up in a maxillary sinus augmentation using anorganic bovine bone (Bio-Oss). A case report with histomorphometric evaluation. Clin Oral Implants Res 2003;14:369-372.
8. Reynolds MA, Aichelmann-Reidy ME, Branch-Mays GL, Gunsolley JC. The efficacy of bone replacement grafts in the treatment of periodontal osseous defects. A systematic review. Ann Periodontol 2003;8:227-265.
9. Gao H, Tan T, Wang D. Effect of composition on the release kinetics of phosphate controlled release glasses in aqueous medium. J Control Release 2004;96:21-28.
10. Daculsi G, LeGeros RZ, Nery E, et al. Transformation of biphasic calcium phosphate ceramics in vivo: ultrastructural and physicochemical characterization. J Biomed Mater Res 1989;23:883-894.
11. Daculsi G, Passuti N, Martin S, et al. Macroporous calcium phosphate ceramic for long bone surgery in humans and dogs. Clinical and histological study. J Biomed Mater Res 1990;24:379-396.
12. Gauthier O, Bouler JM, Aguado E, et al. Macroporous biphasic calcium phosphate ceramics: influence of macropore diameter and macroporosity percentage on bone ingrowth. Biomaterials 1998;19:133-139.
13. Nery EB, LeGeros RZ, Lynch KL, Lee K. Tissue response to biphasic calcium phosphate ceramic with different ratios of HA/beta TCP in periodontal osseous defects. J Periodontol 1992;63:729-735.
14. Yamada S, Heymann D, Bouler JM, Daculsi G. Osteoclastic resorption of calcium phosphate ceramics with different hydroxyapatite/beta-tricalcium phosphate ratios. Biomaterials 1997;18:1037-1041.
15. Daculsi G, LeGeros RZ, Heughebaert M, Barbieux I. Formation of Carbonate-apatite crystals after implantation of calcium phosphate ceramics. Calcification Tissue International 1990;46:20-27.
16. Fleckenstein KB, Cuenin MF, Peacock ME, et al. Effect of a hydroxyapatite tricalcium phosphate alloplast on osseous repair in the rat calvarium. J Periodontol 2006;77:39-45.
17. Gauthier O, Boix D, Grimandi G, et al. A new injectable calcium phosphate biomaterial for immediate bone filling of extraction sockets: a preliminary study in dogs. J Periodontol 1999;70:375-383.
18. Kim YK, Yun PY, Lim SC, et al. Clinical evaluations of OSTEON(R) as a new alloplastic material in sinus bone grafting and its effect on bone healing. J Biomed Mater Res B Appl Biomater 2007:Epub ahead of print.
19. LeGeros RZ, Lin S, Rohanizadeh R, et al. Biphasic calcium phosphate bioceramics:preparation, properties and applications. Journal of material science 2003;14:201-209.
20. Hashimoto M, Ishikawa I, Kinoshita A. Clinical and Histological Observation of Replacement of Biphasic Calcium Phosphate by Bone Tissue in Monkeys. The International journal of periodontics & restorative dentistry 1995;15:204-213.

21. Takeishi A, Hayashi H, Kamatsubara H. Implant of Calcium phosphate ceramics altering Ca/P ratio in bone. Journal of dental research 1989;68:680.
22. Ryu HC, Park JB, Kwon YH, et al. Histologic evaluation of the regenerated bone using bone graft materials. J Korean Acad Periodontol 2006;36:289-303.
23. Rosenlicht JL, Tarnow DP. Human histologic evidence of integration of functionally loaded hydroxyapatite-coated implants placed simultaneously with sinus augmentation: a case report 2 1/2 years postplacement. J Oral Implantol 1999;25:7-10.
24. Scarano A, Pecora G, Piattelli M, Piattelli A. Osseointegration in a sinus augmented with bovine porous bone mineral: histological results in an implant retrieved 4 years after insertion. A case report. J Periodontol 2004; 75:1161-1166.
25. Valentini P, Abensur D, Densari D, et al. Histological evaluation of Bio-Oss in a 2-stage sinus floor elevation and implantation procedure. A human case report. Clin Oral Implants Res 1998;9:59-64.
26. Stavropoulos A, Kostopoulos L, Nyengaard JR, Karring T. Deproteinized bovine bone (Bio-Oss) and bioactive glass (Biogran) arrest bone formation when used as an adjunct to guided tissue regeneration (GTR): an experimental study in the rat. J Clin Periodontol 2003;30:636-643.
27. Artzi Z, Weinreb M, Givol N, et al. Biomaterial resorption rate and healing site morphology of inorganic bovine bone and beta-tricalcium phosphate in the canine: a 24-month longitudinal histologic study and morphometric analysis. Int J Oral Maxillofac Implants 2004;19:357-368.
28. Schlegel AK, Donath K. BIO-OSS--a resorbable bone substitute? J Long Term Eff Med Implants 1998;8:201-209.
29. Skoglund A, Hising P, Young C. A clinical and histologic examination in humans of the osseous response to implanted natural bone mineral. Int J Oral Maxillofac Implants 1997;12:194-199.
30. Zaffe D, Leghissa GC, Pradelli J, Botticelli AR. Histological study on sinus lift grafting by Fisiograft and Bio-Oss. J Mater Sci Mater Med 2005;16:789-793.
31. Jensen SS, Yeo A, Dard M, et al. Evaluation of a novel biphasic calcium phosphate in standardized bone defects: a histologic and histomorphometric study in the mandibles of minipigs. Clin Oral Implants Res 2007;18:752-760.
32. K H Lee, H S Jang, J C Park, et al. Bone formation effect of HA/TCP composite powders in rabbit calvarial bone defects: Histologic study. J Korean Acad Periodontol 2006; 36:1-14.
33. Lee JH, Jung UW, Kim CS, et al. Maxillary sinus augmentation using macroporous biphasic calcium phosphate(MBCP TM): Three case reports with Histologic evaluation J Korean Acad Periodontol 2006;36:567-577.