

تحریک و تسریع بازسازی استخوان و ترمیم شکستگی‌های استخوانی با استفاده از مواد زیستی دارای خاصیت تنظیم کننده سیستم ایمنی: مقاله مروری

چکیده

مقدمه: یکی از مسائلی که در ارتباط با تحریک و تسریع بازسازی استخوان و ترمیم شکستگی‌های استخوانی وجود دارد استفاده و تنظیم عملکرد سیستم ایمنی بدن در راستای استخوان‌سازی سریع و بهبود عیوب است که تحت عنوان استئوایمونولوژی شناخته می‌شود.

مواد و روش‌ها: در این مقاله مروری، با بررسی ۵۷ مقاله از منابع ScienceDirect و PubMed روش مواجهه سیستم ایمنی بدن هنگام بروز شکستگی‌های استخوانی بررسی شده است.

نتایج: مواد بیولوژیکی از قبیل فاکتور نکروز توموری آلفا (TNF- α)، لیپوپلی ساکارید (LPS)، پروتئین اینترلوکین ۱۷ (IL-17)، لیپوتیکوئیک اسید (LTA) به عنوان مواد دارای خاصیت تنظیم کننده سیستم ایمنی معرفی شدند که دارای قابلیت بهبود فرآیند استخوان‌سازی و ترمیم سریع‌تر از طریق تحریک سیستم هستند.

نتیجه‌گیری: جهت گیری پژوهش‌های آینده، در خصوص پیدایش ترکیبات درمانی جدید حاصل از مواد استخوان‌ساز از قبیل فاکتورهای رشد استخوانی و مواد تنظیم کننده رفتار سیستم ایمنی بدن در راستای بازسازی استخوان پیش‌بینی شد.

واژه‌های کلیدی: مواد زیست‌سازگار، بازسازی استخوان، تعدیل ایمنی، استخوان‌سازی

دریافت مقاله: ۲ ماه قبل از چاپ؛ **پذیرش مقاله:** ۱ ماه قبل از چاپ

دکتر وحید ضرغامی^۱، فرشته محرم‌زاده جفناپ^۲، دکتر محمدعلی شکرگزار

مقدمه

اسکلت استخوانی از حرکت و پایداری مکانیکی بدن و همچنین اندام‌های حیاتی پشتیبانی می‌کند و در فرآیندهای مختلف بیولوژیکی مانند متابولیسم مواد معدنی و تولید سلول‌های خونی نقش دارد^(۱,۲). برای انجام این عملکردهای حیاتی، استخوان به بافتی تبدیل شده است که توانایی ذاتی قابل توجهی برای بازسازی پس از آسیب دارد^(۳). بر خلاف اکثر بافت‌های دیگر، بافت استخوانی قادر است بدون تشکیل بافت اسکار کاملاً ترمیم شود، به طوری که معمولاً استخوان تازه تشکیل شده از استخوان سالم موجود قابل تشخیص نیست^(۳).

ترمیم شکستگی استخوان پرکاربردترین مدل برای مطالعه زیست‌شناسی بازسازی استخوان است و نشان می‌دهد که این فرآیند عمدتاً شامل همان رویدادهای بیولوژیکی است که در طول رشد اسکلت جنین مشاهده شده است. شکستگی‌ها اغلب به روش غیرمستقیم بهبود می‌یابند، در نتیجه، ابتدا یک کالوس^۱ شکستگی بافت ترمیم موقت رسوب می‌کند^(۴,۵). با استفاده از عوامل موضعی و سیستمیک بیان شده پس از آسیب، سلول‌های پیش‌ساز^۲ از بافت‌های مختلف به محل آسیب جذب می‌شوند و به بافت زمینه تمایز پیدا می‌کنند که کندروسیت^۳ و استئوبلاست‌ها^۴ را تولید می‌کنند. کندروسیت‌ها بافت دانه‌بندی اولیه را با یک کالوس نرم غضروفی جایگزین می‌کنند، سپس کلسیفیه^۵ می‌شود و به سرعت عملکرد تثبیت نقص را انجام می‌دهد^(۶,۷). پس از هیپرتروفی^۶ و کانی شدن الگوی غضروفی، استئوبلاست‌های نفوذی یک ماتریس آلی متشکل از کلاژن نوع I، پروتئوگلیکان‌ها^۷ و پروتئین‌های خاص استخوان را رسوب می‌دهند که باعث تشکیل بلورهای فسفات می‌شود که ماتریکس معدنی استخوان را تشکیل می‌دهند^(۷,۸).

علاوه بر مسیر غیرمستقیم تشکیل استخوان، جمعیت سلول‌های ساکن که بعد از شکستگی برای تشکیل استخوان دفع شده‌اند، می‌توانند مستقیماً به تشکیل استخوان بدون ایجاد مرحله پیش‌ساز غضروف کمک کنند^(۱).

۱. بانک سلولی ایران، انستیتو پاستور ایران، تهران، ایران.
۲. پژوهشکده علوم و فناوری نانو، دانشگاه صنعتی شریف.

نویسنده مسئول:
وحید ضرغامی

Email:
zarghami.mse@gmail.com

- 1- Callus.
- 2- progenitor cells.
- 3- Chondrocytes.
- 4- osteoblasts.
- 5- calcifies.
- 6- hypertrophy.
- 7- proteoglycans,

«چفت شدن استخوان» (osteoconduction) می‌گویند^(۱۵). همچنین پیوندهای استخوانی از بدن خود بیمار حاوی فاکتورهای رشد بومی هستند که باعث استفاده از سلول‌های مولد استخوان درون‌زا در محل جراحی و القای تمایز به استئوبلاست‌ها می‌شوند، این روند به نام «القای استخوانی» (osteoinduction) نامیده می‌شود^(۱۵). سلول‌های استخوان زنده (پیش‌ساز) موجود در پیوندهای استخوان تازه احتمالاً دارای اثرات پاراکرین^{۱۰} مانند تولید فاکتورهای رشد، سیتوکین‌ها یا فاکتورهای مرتبط با هیپوکسی حمایت کننده از استخوان‌زایی و یا رگ‌زایی هستند^(۱۶).

در این مقاله ابتدا روش‌های مرسوم تهییج استخوان‌سازی و بازسازی عیوب و شکستگی‌های استخوانی در سه بخش کلی بیومواد مصنوعی، سلول‌ها و فاکتورهای رشد استخوانی مرور می‌شود، سپس در باره نقش سیستم ایمنی در تحریک و بازسازی استخوان و مواد بیولوژیکی محرک سیستم ایمنی جهت مشارکت در استخوان‌سازی بحث می‌شود، در پایان، رویکردهای جدید و روش‌های مواجهه چندجانبه و تلفیقی میان روش‌های جدید و مرسوم معرفی می‌شود.

مواد و روش‌ها

در این مقاله مروری، با بررسی ۵۷ مقاله از منابع ScienceDirect و PubMed روش مواجهه سیستم ایمنی بدن هنگام بروز شکستگی‌های استخوانی بررسی شده است.

یافته‌ها

۱- مواد بهبود دهنده

استخوان سازی

استفاده از مواد بیولوژیکی استئوکانداکتیو، سلول‌های استئوپروژنیو^{۱۱}، و محرک‌های استئوکانداکتیو یا ایجاد محیط مکانی مطلوب (به لحاظ مکانیکی)، همگی می‌توانند وضعیت مطلوب‌تری را برای تشکیل استخوان به وجود آورند^(۱۷). روش‌های مرسوم تهییج استخوان‌سازی و بازسازی عیوب و شکستگی‌های استخوانی در چهار دسته کلی مطابق با شکل ۱ مرور می‌شود.

۱-۱- استفاده از بیومواد مصنوعی

بیومواد مصنوعی بی‌شماری تولید شده است که می‌تواند به عنوان ماده پایه پیوند استخوان مورد استفاده قرار گیرد، موادی که از فاز غیرآلی و ساختاری استخوان تقلید می‌کنند مانند فسفات‌های کلسیم یا موادی از

استخوان در هم تنیده در کالوس شکستگی که به لحاظ مکانیکی ضعیف است، پایداری اولیه نقص را ایجاد می‌کند و با استخوان لایه‌ای بسیار مرتب و عالی جایگزین می‌شود، در نتیجه تراکم و ساختار استخوان با بارهای مکانیکی اعمال شده بر آن سازگار می‌شود^(۱). در طول زندگی بزرگسالان، این بازسازی استخوان یک فرایند مداوم است و یک هماهنگی دقیق بین استئوبلاست‌های استخوان ساز و استئوکلست‌های جذب‌کننده^۸ استخوان برقرار است. مشخص شده است که سیستم ایمنی بدن که استئوکلست‌ها از آن منشأ می‌گیرند، یک تنظیم‌کننده مهم در تقابل بین استئوبلاست‌ها و استئوکلست‌ها در طی رشد، ترمیم و بیماری است^(۹). فعل و انفعالات بین سیستم ایمنی بدن و استخوان در یک زمینه علمی به نام «استئوایمونولوژی»^۹ بحث می‌شود^(۱۰).

با وجود ظرفیت ترمیم ذاتی استخوان، عدم ترمیم استخوان می‌تواند نیاز به مداخله جراحی برای تثبیت نقص و برقراری مجدد شرایط مکانیکی و بیولوژیکی مورد نیاز برای ترمیم استخوان داشته باشد^(۱۱). ترمیم ناقص شکستگی استخوان در ۵ تا ۱۵ درصد بیماران تروماتی مشاهده می‌شود و با عوامل خطر مانند بیماری‌های همراه، سن بالا و ویژگی‌های نامطلوب آسیب تشدید می‌شود^(۱۲).

در مواردی که میزان تشکیل بافت استخوانی مورد نیاز از توانایی خود ترمیم‌شوندگی استخوان بیشتر باشد، افزایش ترمیم استخوان نیز لازم است. در تحقیقات مدل حیوانی، چنین کمبودی از استخوان به نام «نقص با اندازه بحرانی» (critical size defects) تعریف می‌شود، که به عنوان کوچکترین اندازه نقصی تعریف می‌شود که بدون توجه به مدت زمان سپری شده، به طور طبیعی بهبود نخواهد یافت^(۱۳). به عنوان مثال، فرض بر این است که نقص استخوان‌های بلند وقتی اندازه آنها بزرگتر از تقریباً دو برابر قطر استخوان باشد، ترمیم نمی‌شود. علاوه بر ترمیم نقص بزرگ استخوان، جراحی القای تشکیل استخوان در خارج از حاشیه اصلی استخوان نیز ممکن است لازم باشد، همان طور که در جراحی «فیوژن ستون فقرات» (Spinal Fusion) معمول است^(۱۳).

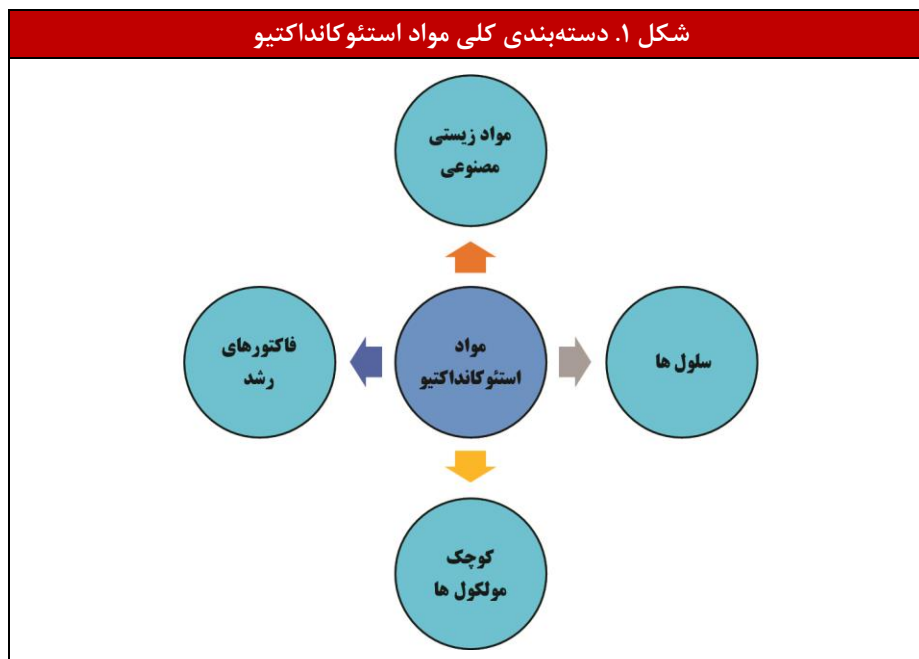
برای درمان‌هایی که هدف آنها بازگرداندن نقص‌های غیرقابل بهبود استخوان یا ایجاد استخوان جدید است، معمولاً از نوعی پیوند استخوان استفاده می‌شود. پیوند استخوان می‌تواند استخوان پیوندی از خود بیمار (autologus) یا جایگزین‌های دیگری باشد مانند استخوان آلونژیک تازه یخ‌زده یا فرآوری شده، جایگزین‌های طبیعی یا مصنوعی استخوان یا هر ترکیبی از اینها که با یا بدون فاکتورهای ویژه تحریک کننده رشد استخوان باشند. آنها می‌توانند خواص بیولوژیکی مختلفی داشته باشند که در تشکیل استخوان نقش دارند^(۱۴).

استخوان اتولوگ، پیوندی بهینه در نظر گرفته می‌شود زیرا در وهله اول به عنوان یک ماتریس ساختاری برای مهاجرت، چسبیدن و تشکیل ماتریس با ورود سلول‌های استخوانی عمل می‌کند، فرآیندی که به آن

10- paracrine.
11- osteoprogenitor.

8- resorbing osteoclasts.
9- osteoimmunology.

شکل ۱. دسته‌بندی کلی مواد استئوکانداکتیو



مزانشیمی^{۱۳} (MSCs) بیشترین استفاده را در زمینه پزشکی بازساختی تشکیل استخوان می‌کنند^(۲۷). از طریق فرآیند تمایز، سلول‌های بنیادی مزانشیمی بومی می‌توانند در بهبود شکستگی استخوان نقش داشته باشند چون شواهد نشان می‌دهد که MSCs بیشتر در حاشیه عروق زندگی می‌کنند و برای تسهیل بازسازی وارد محل آسیب دیده می‌شود^(۲۸).

۳-۱- استفاده از فاکتورهای رشد

در حالت طبیعی فرآیند بازسازی استخوان شامل، فرآیند غضروف‌سازی، استخوان‌زایی و رگ‌زایی، فاکتورهای مختلف رشد برای رشد و تمایز سلولی به منظور تکمیل فرآیند استخوان‌سازی، فعال می‌شوند^(۲۹). در مرحله اولیه، فاکتور رشد ترانسفورماسیون β -(TGF)^{۱۴} و فاکتور رشد مشتق از پلاکت (PDGF)^{۱۵} به محض تشکیل لخته خون توسط پلاکت‌ها آزاد می‌شود و شرایط مهاجرت و میتوزنیک را برای گلبول‌های سفید و MSCs فراهم می‌کند. فرآیندهای تمایز غضروف‌سازی، استخوان‌زایی توسط دسته‌ای از β -(TGF)ها تنظیم می‌شوند که از میان آنها پروتئین‌های مورفوژنتیک استخوان (BMPS)^{۱۶} بسیار مهم هستند^(۳۰). استفاده از پروتئین‌های استخوانی مورفوژنتیک (BMPS) در شکستگی‌های استخوانی توسعه بیشتری یافته است. این پروتئین، از دسته گلیکوپروتئین‌های غیرکلاژنی بوده و تاکنون، ۱۵ نوع مختلف از آنها شناسایی شده است^(۳۱). همچنین مطالعات نشان می‌دهد فاکتورهای آنژیوژنیک مانند PDGF، VEGF^{۱۷} یا FGF^{۱۸} تنها در صورت

قبیل شیشه‌زیست‌فعال یا اسید هیالورونیک که می‌توانند پاسخ سلولی مناسبی را القا کنند که توانایی تقویت تشکیل استخوان را نشان داده‌اند^(۳۰ تا ۳۱). این امر عمدتاً از طریق مکانیزم «استئوکانداکتیوی» (osteoconductive) رخ می‌دهد و بر اساس آن می‌توان رفتار آنها را با تغییر پارامترهای مواد مانند ترکیب شیمیایی، ساختار ماکرو و ریزساختار سطحی هدفمند کرد. با وجود معرفی گسترده این محصولات در عمل بالینی، فقط اندکی تغییر در استفاده از استخوان اتولوگ (autologous) به سمت استفاده از چنین جایگزین‌های استخوان صورت گرفته است، واقعیت این است که مزایای جایگزین‌های استخوان مصنوعی بحث برانگیز است^(۳۱، ۳۲). اغلب در سرامیک‌های فسفات کلسیم خاصیت استئوینداکشن (osteoinduction) مشاهده می‌شود و در مدل‌های پیش‌بالینی معمولاً تشکیل بیشتر استخوان در نقص استخوان تحت درمان با سرامیک با ظرفیت استئوینداکشن در مقایسه با سرامیک‌های غیراستئوینداکتیو دیده می‌شود. با وجود این، هنوز کارآیی بالینی سرامیک‌های استئوینداکتیو مشخص نشده است^(۳۳). مواد زیستی فعلی، نیاز به استفاده از ترکیبات استئوینداکتیو از قبیل فاکتورهای رشد استخوانی در نقائص بزرگ استخوانی دارند^(۳۴).

۳-۲- استفاده از سلول‌ها

منابع سلولی مختلفی که به استخوان‌سازی و کندروژنز^{۱۲} در حین بهبودی شکستگی کمک می‌کنند شامل استئوبلاست‌های ساکن و سلول‌های پیش‌ساز استخراج شده از مغز استخوان، بافت‌های همبند استخوان و عضلات اطراف در مطالعات داخل بدن می‌باشد^(۳۵). مطالعات نشان می‌دهد که سلول‌های پیش‌ساز استخوان که از گردش خون به کار گرفته شده‌اند نیز در کالوس شکستگی وارد می‌شوند^(۳۶). از بین سلول‌های مختلف مولد استخوان، از سلول‌های استرومایی مالتی پوتنت

13- Mesenchymal multipotent stromal cells.
14- transforming growth factor (TGF).
15- platelet-derived growth factor (PDGF).
16- bone morphogenetic proteins (BMPS).
17-vascular endothelial growth factor (VEGF).
18- fibroblast growth factor (FGF).

12- chondrogenesis

پاسخ التهابی متعادل پس از آسیب استخوان به طور کلی بیش از ۷ روز طول نمی‌کشد و به شدت در تشکیل استخوان نقش دارد^(۳۵). سیگنال‌های التهابی خاصی مورد نیاز است و سرکوب پاسخ ایمنی با داروهای ضد التهاب روند بهبود استخوان را مختل می‌کند. بیماری‌های التهابی سیستمیک مانند آرتریت روماتوئید یا التهاب حاد موقتی بعد از پلی‌تروما^{۲۶} می‌تواند منجر به کاهش ترمیم استخوان شود. این واقعیت اهمیت واکنش التهابی موضعی متعادل را برای تشکیل استخوان جدید نشان می‌دهد^(۴).

۲-۲- سلول‌های ایمنی در نقش تنظیم‌کننده‌های تشکیل استخوان

سیستم ایمنی بدن به طور کلی از دو مکانیزم استفاده می‌کند: (۱) پاسخ ذاتی، که بیشتر در ارائه کنش‌های فوری غیر خاص کاربرد دارد و (۲) پاسخ اکتسابی، که یک عمل خاص را انجام می‌دهد و معمولاً دیرتر شروع می‌شود^(۳۶). در اکثر پاسخ‌ها، بین سلول‌های سیستم ایمنی ذاتی و اکتسابی رابطه‌ای وابسته وجود دارد. به عنوان مثال، به دنبال آسیب بافت نرم، ایمنی ذاتی و اکتسابی درگیر می‌شوند و مکمل یکدیگر هستند تا واسطه بازسازی بافت شوند. به همین ترتیب، در بهبود شکستگی، زیرمجموعه سلول‌های ایمنی ذاتی و اکتسابی را می‌توان در محل شکستگی در طی التهاب حاد مشاهده کرد^(۳۷). مطالعات با استفاده از موش‌های تغییر ژن یافته^{۲۷} نقش عملکردی آنها را در بهبود شکستگی تأیید کرده است^(۳۸).

۱-۲-۲- ایمنی ذاتی در تشکیل استخوان

نوتروفیل‌ها در مدت چند دقیقه وارد محل آسیب دیده می‌شوند. مهار نوتروفیل‌ها در مطالعات شکستگی منجر به کاهش استخوان و اختلال در خواص مکانیکی کالوس می‌شود. عملکردهای احیا کننده آنها احتمالاً از طریق تأثیرات جذب مونوسیت‌ها و سنتز ماتریس خارج سلول ایجاد می‌شود^(۳۹). در پاسخ به آسیب بافتی و جذب کننده‌های شیمیایی تولید شده توسط نوتروفیل‌ها، ماکروفاژهای التهابی مهم‌ترین نوع سلول ایمنی ذاتی بعدی هستند که در همان‌توم شکستگی ظاهر می‌شوند. علاوه بر ماکروفاژهای پوشش دهنده استخوان، ماکروفاژهای التهابی هم وجود دارند که به محل نقص نفوذ می‌کنند و انعطاف پذیری بیشتری دارند^(۴۰). کاهش انتخابی ماکروفاژها در زمان‌های مختلف پس از شکستگی استخوان نشان داده است که ماکروفاژها در مراحل مختلف بهبودی به بازسازی استخوان کمک می‌کنند. در یک مدل ترکیبی از آسیب نخاع و التهاب موضعی، تشکیل استخوان در عضلات پس از کاهش انتخابی ماکروفاژها از بین می‌رود^(۴۱). ماکروفاژها از طریق اقدامات متعدد، از جمله تولید سیتوکین‌ها یا عوامل رشد منجر به استخوان‌سازی و از طریق ترشح عواملی که باعث رشد رگ‌زایی و بازسازی عروق می‌شوند، به تشکیل استخوان کمک می‌کنند^(۴۲).

همراه بودن با فاکتورهای رشد استئواینداکتیو مثل BMP-2 اثرات تحریکی بر روی بهبود نقائص و شکستگی‌ها دارد^(۴۱).

۴-۱- استفاده از کوچک مولکول‌ها^{۱۹}

به تازگی، کوچک‌مولکول‌ها به دلیل مزایای منحصر به فردشان، به عنوان یکی از گزینه‌های تحریک استخوان‌سازی برای درمان بر پایه پروتئین‌های نو ترکیب پیشنهاد شده‌اند. تا به امروز، روش‌های درمانی برای کاربردهای ارتوپدی به شدت به فاکتورهای رشد استخوانی متکی بوده‌اند. این روند احتمالاً معکوس خواهد شد زیرا استراتژی‌های نوین کشف دارو، منجر به کشف بسیاری از ترکیبات کوچک‌مولکول و توسعه کاربردهای آنها شده است. در حال حاضر برخی از این کوچک‌مولکول‌ها با پتانسیل استخوان‌سازی در انسان تأیید شده‌اند. برخی از این مواد عبارتند از اسکوربیک اسید (ویتامین ث)، ویتامین دی ۳، دگزامتازون، تتراسایکلین، استاتین، ریتینوئیک اسید^{۲۰}، آندرونات^{۲۱} و غیره^(۳۲).

۲- سیستم ایمنی و

نقش آن در بازسازی استخوان

۱-۲-۱- نقش التهاب حاد در بازسازی و بهبود شکستگی استخوان

ترمیم استخوان آسیب دیده تا حد زیادی روند اسکلت‌سازی^{۲۲} جنین را تکرار می‌کند. فرآیندهای اصلی شامل غضروف‌سازی، استخوان‌سازی، رگ‌زایی و بازسازی ظاهری است^(۲۹). ب. ر. خلاف استخوان‌سازی سیستمیک که در طی اسکلت‌سازی دیده می‌شود، بهبود شکستگی فرآیندی است که به استفاده موضعی و تمایز سلول‌های مناسب برای ترمیم نیاز دارد. بنابراین بهبود استخوان به پاسخ التهابی حاد متکی است تا علائم اساسی موضعی را برای شروع تشکیل استخوان فراهم کند^(۵).

مشاهدات متعدد به این واقعیت اشاره دارد که التهاب حاد ایجاد شده پس از آسیب استخوان دارای اثرات احیا کننده قوی است. همان‌توم^{۲۳} شکستگی اولیه منبعی از سلول‌های التهابی^{۲۴} و سیتوکین‌ها^{۲۵} است که متعاقباً با سلول‌های ساکن و سلول‌های مولد استخوان که به محل نفوذ کرده‌اند، واکنش می‌کنند^(۳۳). این یافته که برداشتن همان‌توم منجر به تأخیر یا هیپرتروفیک عدم اتصال می‌شود اثبات این مسئله است که همان‌توم شکستگی اولیه حاوی سیگنال‌های اساسی بازسازی استخوان است^(۳۴).

19- small molecule.

20- Retinoic acid.

21- Alendronate.

22- Skeletogenesis.

23- hematoma.

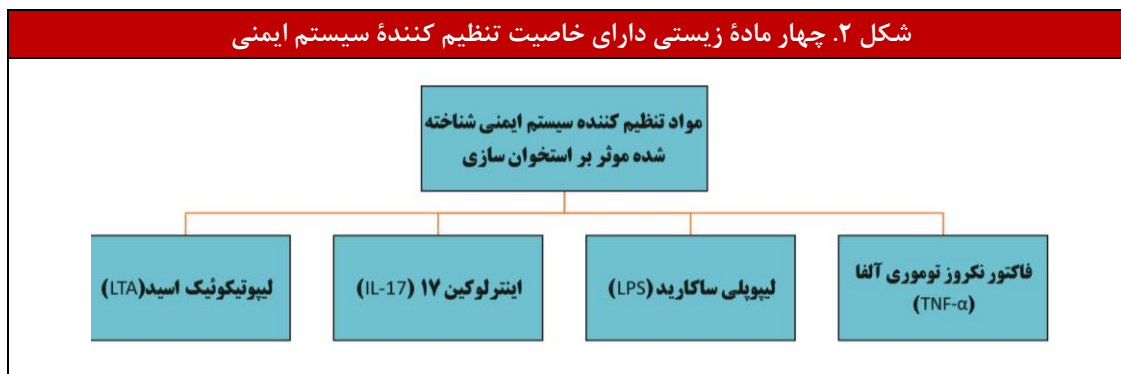
24- inflammatory cells.

25- cytokines.

26- polytrauma.

27- knockout mouse.

شکل ۲. چهار ماده زیستی دارای خاصیت تنظیم کننده سیستم ایمنی



۳- مواد زیستی دارای خاصیت تنظیم کننده سیستم ایمنی و تأثیر آنها بر استخوان سازی

چهار ماده زیستی دارای خاصیت تنظیم کننده سیستم ایمنی هستند که تأثیر آنها بر استخوان سازی بررسی و ثابت شده است (شکل ۲).

۳-۱- فاکتور نکروز توموری آلفا (TNF-α)

فاکتور نکروز تومور آلفا (TNF-α)، یک سیتوکین التهابی و از خانواده پروتئین‌ها است که توسط ماکروفاژها/ مونوسیت‌ها در طی التهاب حاد تولید می‌شود و مسئول طیف متنوعی از رویدادهای سیگنالینگ در سلول‌ها، منجر به نکروز یا آپوپتوز است. TNF آلفا بسیاری از تأثیرات خود را با اتصال به گیرنده غشای سلولی ۵۵ کیلو دالتون موسوم به TNFR-1 یا گیرنده غشای سلولی ۷۵ کیلو دالتون تحت عنوان TNFR-2 اعمال می‌کند. هر دوی این گیرنده‌ها متعلق به گیرنده‌های خانواده TNF هستند^(۴۹). مطالعات متعدد نشان می‌دهد که TNF-α، در ترکیب با مخزن میزبان سلول‌های بنیادی مزانشیمی، عامل اصلی تعیین کننده در موفقیت ترمیم استخوان در عیوب و شکستگی‌ها است. ثابت شده است در بیماران با ترمیم ضعیف استخوان معمولاً پاسخ‌های نامناسب TNF-α وجود دارد، که میزان نامناسب آن به عدم پیوند در این جمعیت بیمار منجر شده است. استفاده از TNF-α در بهبود شکستگی به صورت موضعی منجر به نتایج بهبود مطلوب در تست‌های برون تنی (Invitro) و درون تنی (Invivo) شده است^(۵۰).

۳-۲- لیپوپلی ساکارید^{۳۴} (LPS)

یکی از مولکول‌های سطح باکتریایی که بیشتر مورد مطالعه قرار می‌گیرد، گلیکولپید معروف به لیپوپلی ساکارید (LPS) است که در واقع ماده اصلی پوست باکتری‌های گرم منفی است. LPS که در اوایل دهه ۱۹۰۰ به آن توجه شد، به دلیل توانایی خود در تحریک سیستم ایمنی بدن، به عنوان اندوتوکسین شناخته شد. بعداً مشخص شد که LPS در سطح سلول باکتری‌ها مانع نفوذپذیری ایجاد می‌کند و عامل اصلی

سیتوکین‌های پیش‌التهابی فاکتور نکروز توموری آلفا^{۲۸} (TNF-α)، اینترلوکین^{۲۹} ۶-۶ (IL-6)، اینترلوکین-۱β (IL-1β) و آنکوستاتین^{۳۰} M حاصل از ماکروفاژ در طی التهاب حاد تنظیم مجدد می‌شوند. هر کدام از این سیتوکین‌ها در ترمیم استخوان نقش عملیاتی دارند که توسط مطالعات موش‌های تغییر ژن یافته نشان داده شده است و ممکن است اقدامات مختلفی در رسانش مواد شیمیایی^{۳۱}، تمایز استئوبلاست، رگ‌زایی یا تولید غضروف داشته باشد، به خصوص TNF-α در این فرایندهای مختلف سهم مهمی دارد^(۴۳). در حالی که ماکروفاژهای ترشح کننده سیتوکین پیش‌التهابی (ماکروفاژهای M1) در طی مرحله حاد التهاب غالب هستند، فنوتیپ به سمت یک نوع سلول پیش تولید کننده (یعنی ماکروفاژهای M2) تغییر می‌یابد که چندین فاکتور رشد پیش‌رگ‌زایی مانند VEGF، PDGF، FGF و فاکتور رشد شبه‌انسولین^{۳۲} (IGF)-1 بیان می‌کند^(۴۴). پیشنهاد شده است که ایجاد اختلال در این فرآیند دلیل ضعف استخوان سازی و رگ‌زایی در مدل‌های بهبود استخوان با تأخیر است^(۴۵).

۲-۲-۲- ایمنی اکتسابی در تشکیل استخوان

کاملاً ثابت شده است که لنفوسیت‌ها عملکرد مهمی در بازسازی استخوان دارند که فعالیت موضعی استئوکلاست‌ها را تعیین می‌کنند. همچنین لنفوسیت‌ها می‌توانند یک اثر مهم در از بین رفتن التهاب استخوان در شرایط التهابی کنترل نشده باشند^(۴۶). به تازگی، اثرات بازسازی سلول‌های ایمنی اکتسابی در ترمیم استخوان مورد توجه قرار گرفته است. موش‌های فاقد لنفوسیت عملکردی تشکیل کالوس فراوانی را نشان می‌دهند، اما کالوس شکستگی آنها کیفیت استخوان و سطح پایین تری از مارکرهای استخوانی را دارد. لنفوسیت T پیش‌التهابی انتخابی به از بین رفتن کالوس کمک می‌کند^(۴۷،۴۸).

28- Tumor necrosis factor-α.

29- Interleukin.

30- Oncostatin M.

31- chemotaxis.

32- Insulin like growth factor (IGF).

33- Immunomodulators.

34 -Lipopolysaccharide.



۴-۳- لیپوتیکوئیک اسید^{۳۶} (LTA)

لیپوتیکوئیک اسید (LTA) یک آمفی‌فیل چسبنده در سطح باکتری‌های گرم مثبت و تنظیم‌کننده آنزیم‌های دیواره اتولیتیک است. این ماده از سلول‌های باکتریایی عمدتاً پس از باکتریالیز ناشی از لیزوزیم، پپتیدهای کاتیونی از لکوسیت‌ها یا آنتی‌بیوتیک‌های بتالاکتام آزاد می‌شود. یا به سلول‌های هدف به طور غیراختصاصی، به فسفولیپیدهای غشایی، یا به طور خاص، به CD14 متصل می‌شود. این ماده باعث ترشح نوتروفیل‌ها و ماکروفاژها، هیدرولازهای اسیدی، پروتئینازهای بسیار کاتیونی، پپتیدهای کاتیونی ضدباکتری، فاکتورهای رشد و سیتوکین‌های سیتوتوکسیک می‌شود که به صورت هم‌افزا باعث تقویت استخوان‌سازی می‌شوند^(۵۵). اطلاعات محدود نشان می‌دهد که LTA برای بازسازی استخوان در شرایط آزمایشگاهی مفید است. در پژوهشی که برای درمان شکستگی استخوان ران موش توسط LTA انجام شد، نتایج حاصل حاکی از آن بود که درمان LTA باعث تشکیل بموقع استخوان، استخوان‌سازی و بهبود سریع شکستگی در موش‌های دارای نقص استخوان ران می‌شود. در شرایط آزمایشگاهی، LTA به طور مستقیم شاخص‌های تمایز سلولی MC3T3-E1 ناشی از عوامل پوستی را افزایش داد، از جمله فعالیت قلبیایی فسفاتاز، رسوب کلسیم و بیان استئوپوننتین. در نتیجه، یافته‌ها نشان می‌دهد که LTA دارای خواص امیدوار کننده برای بازسازی استخوان است^(۵۶).

مقاومت نسبت به آنتی‌بیوتیک است. این مقاومتی است که باکتری‌های گرم منفی در برابر بسیاری از ضد میکروب‌ها از خود نشان می‌دهند. جای تعجب نیست که به این خواص مهم LPS بیش از صد سال است که در ادبیات پزشکی به طور گسترده اشاره می‌شود^(۵۱). LPS محرک استخوان‌سازی است به گونه‌ای که پژوهش‌های انجام شده بر روی مدل حیوانی در استفاده از آن نشان می‌دهد که LPS با یک کالوس هیپرتروفیک و نابالغ ایجاد می‌کند تا فرآیند استخوان‌سازی تسریع شود. همچنین نتایج برون‌تنی بر روی سلول‌های بنیادی مزانشیمال حاکی از آن است که LPS سرعت تمایز سلولی و استخوانی شدن را افزایش می‌دهد^(۵۲).

۴-۳- پروتئین اینترلوکین ۱۷^{۳۵} (IL-17)

اینترلوکین ۱۷ (IL-17) که به عنوان IL-17A نیز شناخته می‌شود، یک سیتوکین کلیدی است که فعال‌سازی سلول T را به فعال‌سازی نوتروفیل پیوند می‌دهد. به همین ترتیب، IL-17 می‌تواند باعث ایجاد ایمنی ذاتی در برابر عوامل بیماری‌زا شود یا در پاتوژن بیماری‌های التهابی مانند پسوریازیس و آرتریت روماتوئید نقش داشته باشد. IL-17 علاوه بر ارتقاء التهاب، نوتروفیل، دارای اثرات قوی استئوکلوآستوژنیک است که احتمالاً در پاتوژن پریدونتیت، آرتریت روماتوئید و سایر بیماری‌های مرتبط با ایمونوپاتولوژی استخوان نقش دارد^(۵۳). پژوهش‌های اخیراً انجام شده در زمینه استفاده از این ماده برای درمان عیوب استخوانی به همراه سلول‌های T حاکی از تسریع در فرآیند استخوان‌سازی و تمایز سلول‌های بنیادی به استخوانی شدن است^(۵۴).

36- Lipoteichoic acid (LTA).

35- Interleukin 17.

منابع

- Marsell R, Einhorn TA. The biology of fracture healing. *Injury*. 2011; 42(6):551-5. doi: 10.1016/j.injury.2011.03.031
- Klein-Nulend J, Bacabac RG, Bakker AD. Mechanical loading and how it affects bone cells: the role of the osteocyte cytoskeleton in maintaining our skeleton. *Eur Cell Mater*. 2012; 24:278-91. doi: 10.22203/ecm.v024a20
- Cancedda R, Dozin B, Giannoni P, Quarto R. Tissue engineering and cell therapy of cartilage and bone. *Matrix Biol*. 2003; 22(1):81-91. doi: 10.1016/s0945-053x(03)00012-x
- Schlundt C, Schell H, Goodman SB, Vunjak-Novakovic G, Duda GN, Schmidt-Bleek K. Immune modulation as a therapeutic strategy in bone regeneration. *J Exp Orthop*. 2015; 2(1):1. doi: 10.1186/s40634-014-0017-6
- Mountziaris PM, Mikos AG. Modulation of the inflammatory response for enhanced bone tissue regeneration. *Tissue Eng Part B Rev*. 2008; 14(2):179-86. doi: 10.1089/ten.teb.2008.0038
- Kim BC, Bae H, Kwon IK, Lee EJ, Park JH, Khademhosseini A, et al. Osteoblastic/cementoblastic and neural differentiation of dental stem cells and their applications to tissue engineering and regenerative medicine. *Tissue Eng Part B Rev*. 2012; 18(3):235-44. doi: 10.1089/ten.TEB.2011.0642
- Bahney CS, Zondervan RL, Allison P, Theologis A, Ashley JW, Ahn J, Miclau T, Marcucio RS, Hankenson KD. Cellular biology of fracture healing. *J Orthop Res*. 2019; 37(1):35-50. doi: 10.1002/jor.24170
- Marks Jr SC, Odgren PR. Structure and development of the skeleton. *In Principles of Bone Biology*. 2002; 3-15. doi: 10.1016/B978-012098652-1/50103-7
- Lorenzo J, Horowitz M, Choi Y. Osteoimmunology: interactions of the bone and immune system. *Endocr Rev*. 2008; 29(4):403-40. doi: 10.1210/er.2007-0038
- Takayanagi H. New developments in osteoimmunology. *Nat Rev Rheumatol*. 2012; 8(11):684-9. doi: 10.1038/nrrheum.2012.167
- Einhorn TA, Gerstenfeld LC. Fracture healing: mechanisms and interventions. *Nat Rev Rheumatol*. 2015; 11(1):45-54. doi: 10.1038/nrrheum.2014.164
- Bishop JA, Palanca AA, Bellino MJ, Lowenberg DW. Assessment of compromised fracture healing. *J Am Acad Orthop Surg*. 2012; 20(5):273-82. doi: 10.5435/JAAOS-20-05-273
- Garcia P, Histing T, Holstein JH, Klein M, Laschke MW, Matthys R, et al. Rodent animal models of delayed bone healing and non-union formation: a comprehensive review. *Eur Cell Mater*. 2013; 26:1-12. doi: 10.22203/ecm.v026a01
- Pape HC, Evans A, Kobbe P. Autologous bone graft: properties and techniques. *J Orthop Trauma*. 2010; 24 (Suppl 1):S36-40. doi: 10.1097/BOT.0b013e3181cec4a1
- Albrektsson T, Johansson C. Osteoinduction, osteoconduction and osseointegration. *Eur Spine J*. 2001; 10 Suppl 2(Suppl 2):S96-101. doi: 10.1007/s005860100282
- Stegen S, van Gastel N, Carmeliet G. Bringing new life to damaged bone: the importance of angiogenesis in bone repair and regeneration. *Bone*. 2015; 70:19-27. doi: 10.1016/j.bone.2014.09.017

۴- استفاده ترکیبی از مواد بهبود دهنده

استخوان سازی و مواد تنظیم کننده سیستم ایمنی،

جهت گیری پژوهش های آینده

پژوهشگران در حال حاضر، در حال بنیان گذاری رویکرد پژوهش های آینده هستند تا بتوان از خاصیت مواد بهبود دهنده رشد و تمایز استخوانی و همچنین مواد تنظیم کننده سیستم ایمنی به طور همزمان بهره جست. به کمک این رویکردها استخوان سازی و ترمیم شکستگی ها و عیوب استخوانی در سریع ترین زمان ممکن اتفاق می افتد. به عنوان نمونه، به تازگی، پژوهش هایی در زمینه استفاده همزمان لیپوپلی ساکارید (LPS) و فاکتور رشد BMP-2 انجام شده است که حاکی از اثر سینرژیک این دو ماده بر روی تمایز سلولی و استخوان سازی است^(۵۶). پیش بینی می شود در آینده با شناسایی مواد دیگر تنظیم کننده سیستم ایمنی، پژوهش های بیشتری جهت بهره گیری از خواص همزمان این دو گونه از مواد استئوژنیک و تنظیم کننده سیستم ایمنی تعریف و خواص متفاوت و کاربردهای منحصر به فردی در حوزه ترمیم استخوان و درمان شکستگی های استخوانی شکل گیرد^(۵۷) (شکل ۳).

نتیجه گیری

در این مقاله ابتدا روش های مرسوم تحریک استخوان سازی و بازسازی عیوب و شکستگی های استخوانی در سه بخش کلی استفاده از بیودمواد مصنوعی، سلول ها و فاکتورهای رشد استخوانی بررسی شد، سپس نقش سیستم ایمنی در تحریک و بازسازی استخوان و مواد بیولوژیکی محرک سیستم ایمنی جهت مشارکت در استخوان سازی مورد مطالعه قرار گرفت. بررسی حاکی از این است که سیستم ایمنی بدن، به عنوان کامل ترین سیستم مواجهه شونده با عیوب و شکستگی های استخوانی، وظیفه ذاتی خود را به گونه ای انجام می دهد تا به نحو مطلوبی شکستگی درمان شود. منتهی در مواردی که شکستگی و عیوب بزرگتر بوده و از حد بحرانی بیشتر است، نیازمند دخالت خارجی و درمان عموماً به روش جراحی است. در این مسیر استفاده از مواد بیولوژیکی از قبیل فاکتور نکروز توموری آلفا (TNF- α)، لیپوپلی ساکارید (LPS)، پروتئین اینترلوکین ۱۷ (IL-17)، لیپوتیکوئیک اسید (LTA) به عنوان مواد دارای خاصیت تنظیم کننده سیستم ایمنی، محرک استخوان سازی و تنظیم کننده عملکرد سیستم ایمنی جهت مواجهه بهتر با مسئله و آسیب وارد شده می باشد که پیش بینی شد استفاده تلفیقی از این مواد با مواد مرسوم استئوژنیک مثل مواد مصنوعی، فاکتورهای رشد استخوانی می تواند نوید بخش ترکیبات درمانی جدیدی باشد که در آینده طول مدت درمان شکستگی های استخوانی را کوتاه تر نماید.

17. Wang W, Yeung KW. Bone grafts and biomaterials substitutes for bone defect repair: A review. *Bioact Mater.* 2017; 2(4):224-247. doi: 10.1016/j.bioactmat.2017.05.007
18. Jeong J, Kim JH, Shim JH, Hwang NS, Heo CY. Bioactive calcium phosphate materials and applications in bone regeneration. *Biomater Res.* 2019; 23:4. doi: 10.1186/s40824-018-0149-3
19. Jones JR. Review of bioactive glass: from Hench to hybrids. *Acta Biomater.* 2013; 9(1):4457-86. doi:10.1016/j.actbio.2012.08.023
20. Zhai P, Peng X, Li B, Liu Y, Sun H, Li X. The application of hyaluronic acid in bone regeneration. *Int J Biol Macromol.* 2020; 151:1224-39. doi: 10.1016/j.ijbiomac.2019.10.169
21. Habibovic P, Kruyt MC, Juhl MV, Clyens S, Martinetti R, Dolcini L, et al. Comparative in vivo study of six hydroxyapatite-based bone graft substitutes. *J Orthop Res.* 2008; 26(10):1363-70. doi: 10.1002/jor.20648
22. Kinaci A, Neuhaus V, Ring DC. Trends in bone graft use in the United States. *Orthopedics.* 2014; 37(9):e783-8. doi: 10.3928/01477447-20140825-54
23. Parikh SN. Bone graft substitutes: past, present, future. *J Postgrad Med.* 2002; 48(2):142-8. PMID: 12215702
24. Chen S, Shi Y, Zhang X, Ma J. Evaluation of BMP-2 and VEGF loaded 3D printed hydroxyapatite composite scaffolds with enhanced osteogenic capacity in vitro and in vivo. *Mater Sci Eng C Mater Biol Appl.* 2020; 112:110893. doi: 10.1016/j.msec.2020.110893
25. Xu GP, Zhang XF, Sun L, Chen EM. Current and future uses of skeletal stem cells for bone regeneration. *World J of Stem Cells.* 2020; 12(5):339-350. doi: 10.4252/wjsc.v12.i5.339
26. Fayaz HC, Giannoudis PV, Vrahas MS, Smith RM, Moran C, Pape HC, et al. The role of stem cells in fracture healing and nonunion. *Int Orthop.* 2011; 35(11):1587-97. doi: 10.1007/s00264-011-1338-z
27. Wang X, Wang Y, Gou W, Lu Q, Peng J, Lu S. Role of mesenchymal stem cells in bone regeneration and fracture repair: a review. *Int Orthop.* 2013; 37(12):2491-8. doi: 10.1007/s00264-013-2059-2
28. Caplan AI, Correa D. The MSC: an injury drugstore. *Cell Stem Cell.* 2011; 9(1):11-5. doi: 10.1016/j.stem.2011.06.008
29. Yun YR, Jang JH, Jeon E, Kang W, Lee S, Won JE, Kim HW, Wall I. Administration of growth factors for bone regeneration. *Regen Med.* 2012; 7(3):369-85. doi: 10.2217/rme.12.1
30. Lieberman JR, Daluiski A, Einhorn TA. The role of growth factors in the repair of bone. *Biology and clinical applications. J Bone Joint Surg Am.* 2002; 84(6):1032-44. doi: 10.2106/00004623-200206000-00022
31. Gothard D, Smith EL, Kanczler JM, Rashidi H, Qutachi O, Henstock J, et al. Tissue engineered bone using select growth factors: A comprehensive review of animal studies and clinical translation studies in man. *Eur Cell Mater.* 2014; 28:166-207. doi: 10.22203/ecm.v028a13
32. Carbone EJ, Rajpura K, Jiang T, Laurencin CT, Lo KW. Regulation of bone regeneration with approved small molecule compounds. *Advances in Regenerative Biology.* 2014; 1(1):25276. doi: 10.3402/arb.v1.25276
33. Mizuno K, Mineo K, Tachibana T, Sumi M, Matsubara T, Hirohata. The osteogenic potential of fracture haematoma. Subperiosteal and intramuscular transplantation of the haematoma. *J Bone Joint Surg Br.* 1990; 72(5):822-9. doi: 10.1302/0301-620X.72B5.2211764
34. Pountos I, Walters G, Panteli M, Einhorn TA, Giannoudis PV. Inflammatory Profile and Osteogenic Potential of Fracture Haematoma in Humans. *J Clin Med.* 2019; 9(1):47. doi: 10.3390/jcm9010047
35. Claes L, Recknagel S, Ignatius A. Fracture healing under healthy and inflammatory conditions. *Nat Rev Rheumatol.* 2012; 8(3):133-43. doi: 10.1038/nrrheum.2012.1
36. Epelman S, Liu PP, Mann DL. Role of innate and adaptive immune mechanisms in cardiac injury and repair. *Nat Rev Immunol.* 2015; 15(2):117-29. doi: 10.1038/nri3800
37. Charles JF, Nakamura MC. Bone and the innate immune system. *Curr Osteoporos Rep.* 2014; 12(1):1-8. doi: 10.1007/s11914-014-0195-2
38. Alexander KA, Chang MK, Maylin ER, Kohler T, Müller R, Wu AC, et al. Osteal macrophages promote in vivo intramembranous bone healing in a mouse tibial injury model. *J Bone Miner Res.* 2011; 26(7):1517-32. doi: 10.1002/jbmr.354
39. Kovtun A, Bergdolt S, Wiegner R, Radermacher P, Huber-Lang A, Ignatius A. The crucial role of neutrophil granulocytes in bone fracture healing. *Eur Cell Mater.* 2016; 32:152-62. doi: 10.22203/ecm.v032a10
40. Schlundt C, El Khassawna T, Serra A, Dienelt A, Wendler S, Schell H, et al. Macrophages in bone fracture healing: Their essential role in endochondral ossification. *Bone.* 2018; 106:78-89. doi: 10.1016/j.bone.2015.10.019
41. Sinder BP, Pettit AR, McCauley LK. Macrophages: Their Emerging Roles in Bone. *J Bone Miner Res.* 2015; 30(12):2140-9. doi: 10.1002/jbmr.2735
42. Nucera S, Bizziato D, De Palma M. The interplay between macrophages and angiogenesis in development, tissue injury and regeneration. *Int J Dev Biol.* 2011; 55(4-5):495-503. doi: 10.1387/ijdb.103227sn
43. Guihard P, Boutet MA, Brounais-Le Royer B, Gamblin AL, Amiaud J, Renaud A, et al. Oncostatin m, an inflammatory cytokine produced by macrophages, supports intramembranous bone healing in a mouse model of tibia injury. *Am J Pathol.* 2015; 185(3):765-75. doi: 10.1016/j.ajpath.2014.11.008
44. Mountziaris PM, Spicer PP, Kasper FK, Mikos AG. Harnessing and modulating inflammation in strategies for bone regeneration. *Tissue Eng Part B Rev.* 2011; 17(6):393-402. doi: 10.1089/ten.TEB.2011.0182
45. Schmidt-Bleek K, Kwee BJ, Mooney DJ, Duda GN. Boon and bane of inflammation in bone tissue regeneration and its link with angiogenesis. *Tissue Eng Part B Rev.* 2015; 21(4):354-64. doi: 10.1089/ten.TEB.2014.0677
46. Madaro L, Bouche M. From innate to adaptive immune response in muscular dystrophies and skeletal muscle regeneration: the role of lymphocytes. *Biomed Res Int.* 2014; 2014:438675. doi: 10.1155/2014/438675
47. Kan L, Liu Y, McGuire TL, Berger DM, Awatramani RB, Dymecki SM, et al. Dysregulation of local stem/progenitor cells as a common cellular mechanism for heterotopic ossification. *Stem Cells.* 2009; 27(1):150-6. doi: 10.1634/stemcells.2008-0576
48. El Khassawna T, Serra A, Bucher CH, Petersen A, Schlundt C, Könnecke I, et al. T lymphocytes influence the mineralization process of bone. *Front Immunol.* 2017; 8:562. doi: 10.3389/fimmu.2017.00562
49. Idriss HT, Naismith JH. TNF α and the TNF receptor superfamily: Structure-function relationship (s). *Microsc Res*

- Techniq. 2000; 50(3):184-95. doi: 10.1002/1097-0029(20000801)50:3%3c184::AID-JEMT2%3e3.0.CO;2-H
50. Karnes JM, Daffner SD, Watkins CM. Multiple roles of tumor necrosis factor-alpha in fracture healing. *Bone*. 2015; 78:87-93. doi: 10.1016/j.bone.2015.05.001
51. Bertani B, Ruiz N. Function and Biogenesis of Lipopolysaccharides. *EcoSal Plus*. 2018; 8(1):10.1128/ecosalplus.ESP-0001-2018. doi: 10.1128/ecosalplus.ESP-0001-2018
52. Reikerås O, Shegarfi H, Wang JE, Utvåg SE. Lipopolysaccharide impairs fracture healing: an experimental study in rats. *Acta Orthop*. 2005; 76(6):749-53. doi: 10.1080/17453670510045327
53. Zenobia C, Hajishengallis G. Basic biology and role of interleukin-17 in immunity and inflammation. *Periodontol* 2000. 2015; 69(1):142-59. doi: 10.1111/prd.12083
54. Ono T, Okamoto K, Nakashima T, Nitta T, Hori S, Iwakura Y, Takayanagi H. IL-17-producing $\gamma\delta$ T cells enhance bone regeneration. *Nat Commun*. 2016; 7:10928. doi: 10.1038/ncomms10928
55. Ginsburg I. Role of lipoteichoic acid in infection and inflammation. *Lancet Infect Dis*. 2002; 2(3):171-9. doi: 10.1016/s1473-3099(02)00226-8
56. Hu CC, Chang CH, Hsiao YM, Chang Y, Wu YY, Ueng SWN, et al. Lipoteichoic Acid Accelerates Bone Healing by Enhancing Osteoblast Differentiation and Inhibiting Osteoclast Activation in a Mouse Model of Femoral Defects. *Int J Mol Sci*. 2020; 21(15):5550. doi: 10.3390/ijms21155550
57. Fu Z, Wang X, Li B, Tang Y. Fraxinellone alleviates inflammation and promotes osteogenic differentiation in lipopolysaccharide-stimulated periodontal ligament stem cells by regulating the bone morphogenetic protein 2/Smad pathway. *Arch Oral Biol*. 2021; 121:104927. doi: 10.1016/j.archoralbio.2020.104927