

مطالعه پرتونگاری پیوند غضروف در ترمیم نقیصه تجربی استخوان زند زبرین در خرگوش

فواد سعدی^۱، رسول رحیم زاده^{۲*}، علی اکبر امیری^۳، عباس وشکینی^۴، داوود شریفی^۵

تاریخ دریافت: ۹۰/۷/۱۶ تاریخ پذیرش: ۹۱/۲/۴

چکیده

در این مطالعه تعداد ۱۶ سر خرگوش نر بالغ نژاد نیوزیلندی با وزن ۳ تا ۳/۵ کیلوگرم مورد استفاده قرار گرفت، بطوری که حیوانات قبل از شروع کار، تحت شرایط مشابه با رژیم غذایی یکسان نگهداری شدند. سپس تحت بیهوشی عمومی و با ایجاد برش از ناحیه قدامی میانی استخوان زند زبرین راست قطعه‌ای به طول و قطر ۱ سانتیمتر از وسط استخوان با استفاده از استخوان بر برقی برداشته شد و سپس خرگوش‌ها به دو دسته ۸ تایی گروه کنترل و آزمایش تقسیم شدند. در گروه کنترل از هیچ ماده‌ای استفاده نشد، اما در گروه آزمایش نقیصه ایجاد شده با غضروف لاله گوش همان خرگوش‌ها پر می شدند. سپس در روزهای ۰، ۱۵ و ۳۰ و ۶۰ حیوانات هم در گروه آزمایش وهم در گروه کنترل تحت بررسی‌های رادیوگرافی قرار گرفتند. در رادیوگراف‌های گرفته شده از گروه کنترل در روز ۳۰ کالوسی مشاهده نشد ولی در گروه آزمایش کالوس داخلی از روز ۳۰ مشاهده شد و فضای نقیصه به صورت نسبی پر شد. در روز ۶۰ در گروه شاهد کالوس داخلی مشاهده شد ولی کالوس بین کورتکسی تشکیل نشده بود و فضای نقیصه به صورت نسبی پر شد اما در گروه آزمایش کالوس داخلی و کالوس بین کورتکسی مشاهده شد و فضای نقیصه به صورت کامل پر شد. این تحقیق نشان داد که، گرافت غضروفی به عنوان یک پرکننده نقیصه استخوانی مناسب می باشد و رادیوگرافی تکنیک موفق و مناسبی برای نشان دادن واکنش کالوسی در محل نقیصه می باشد.

واژگان کلیدی: غضروف، استخوان زند زبرین، رادیوگرافی، پیوند استخوانی

مقدمه

هر چند استخوانهای اندام‌ها از استحکام خوبی

برخوردار هستند ولی ایجاد ضایعه در شکل‌های مختلف به دلایل متعدد و فعالیت‌های فیزیکی گزارش شده است. التیام شکستگی‌ها یکی از مشکلات بالینی در انسان و حیوانات می‌باشد و با توجه به فرضیه عدم التیام و یا طولانی بودن زمان التیام شکستگی‌ها، پژوهش‌ها و تحقیقات در این زمینه در دهه‌های اخیر صورت گرفته است (۶ و ۲). یکی از اهداف این مطالعه،

۱- استادیار، دانشگاه آزاد اسلامی واحد مهاباد، مهاباد- ایران

۲- استادیار، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد سنندج، سنندج- ایران

۳- مربی، گروه علوم پایه، دانشکده دامپزشکی دانشگاه آزاد اسلامی واحد سنندج، سنندج- ایران

۴- دانشیار، گروه تخصصی رادیولوژی، دانشکده علوم تخصصی دامپزشکی، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد علوم و تحقیقات، تهران- ایران

۵- استاد، گروه تخصصی جراحی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه تهران، تهران- ایران

*- پست الکترونیکی نویسنده مسئول: drrahimzadeh@iausdj.ac.ir

مواد و روش کار

این مطالعه بر روی ۱۶ خرگوش نر بالغ نیوزیلندی با وزن ۳/۵-۳ کیلوگرم انجام گرفت. به خرگوش ها ۸ ساعت قبل از عمل جراحی پرهیز غذایی کامل و ۲ ساعت قبل از عمل جراحی نیز پرهیز از آب داده شد. جهت آرام کردن حیوان از آسپرومازین ۲٪ به میزان یک میلی گرم به ازای هر کیلوگرم وزن بدن استفاده شد. برای ایجاد بیهوشی از کتامین به میزان ۳۵ میلی گرم و زایلازین به مقدار ۵ میلی گرم به ازای هر کیلوگرم وزن بدن استفاده شد (۴ و ۵). برای تسهیل بیهوشی از دیازپام به میزان ۱ میلی گرم به ازای هر کیلوگرم وزن بدن استفاده شد (۴ و ۵). پس از ایجاد بیهوشی و حالت گماری دام به پهلو راست، موضع عمل (ناحیه قدامی جانبی اندام حرکتی قدامی راست) تراشیده و با بتادین اسکراب و محلول بتادین و الکل شستشو و ضد عفونی گردیده و سپس موضع عمل شان گذاری شد.

نحوه عمل جراحی و ایجاد نقیصه در تمام خرگوش ها یکسان و به شرح زیر بودند: ابتدا برشی به طول ۳ سانتی متر و به صورت موازی با محور طولی استخوان زند زبرین در سطح قدامی جانبی اندام حرکتی قدامی راست ایجاد گردید. پس از کنار زدن فاسیا و بافت های همبندی زیر جلدی و تاندون، قسمت قدامی استخوان زند زبرین در معرض دید قرار گرفت. سپس با استفاده از استخوان بر برقی، از ناحیه وسط استخوان زند زبرین قطعه‌ای به قطر و اندازه ۱ سانتیمتر برداشت گردید (تصویر ۱). بلافاصله پس از برداشت قطعه استخوانی، موضع عمل با نرمال سالین شستشو داده شد. پس از آن در هر دو گروه کنترل و آزمایش نقیصه ایجاد شده با ۴ پیچ و پلاتین شش سوراخ طوری تثبیت شد که فضای مذکور در اندازه ۱ سانتی متر دیده می شد. در گروه کنترل فضای نقیصه خالی ماند اما در گروه آزمایش بعد از تثبیت، نقیصه با غضروف اخذ شده از لاله گوش همان خرگوش پر شد. لاله گوش به این شکل تهیه می شد که ۱ سانتیمتر از بالای قاعده

بررسی تسریع التیام نقیصه استخوانی و به دست آوردن توانایی وزن گیری در زمان کوتاه می باشد. در دو دهه گذشته پیوندهای استخوانی و جایگزین های استخوان در ترمیم معایب اسکلتی در استخوان اسفنجی یا استخوان متراکم برای ترمیم یکپارچگی اسکلتی و افزایش بهبود استخوان به کار برده شده اند (۸ و ۱). پیامد کلینیکی روش پیوند به عوامل زیادی از قبیل نوع پیوند، نوع تثبیت و محل شکستگی، بستگی دارد. از موارد مورد استفاده در پیوند استخوان اتوگرافت ها، آلوگرافت ها، زنوگرافت ها، مواد سنتزی و ترکیبات اینها می باشد. روش پیوند اتوگرافت در اکثر بررسی ها به آلوگرافت ارجحیت داشته و ترمیم استخوان در آلوگرافت ها در مقایسه با اتوگرافت ها، کندتر صورت می گیرد. علیرغم کاربرد گسترده بانک استخوان در سرتاسر جهان، هنوز سؤالات زیادی در زمینه ایمونولوژی آلوگرافت، مشارکت و الگوسازی مجدد وجود دارد که پاسخ داده نشده اند. پیوندهای خودی ایجاد واکنش ایمنی نمی نمایند ولی آلوگرافت ها می توانند دارای خاصیت ایمنی زایی بوده و با تحریک پاسخهای سلولی و هومورال سبب کند شدن و یا حتی توقف روند ترکیب پیوند گردند. مواد سنتزی متعدد به عنوان جایگزین های استخوان و جایگزین های مواد استخوانی، توسعه یافته اند (۷ و ۱۱)، با این وجود به نظر می رسد با محدودیتی که در این مواد جایگزین وجود دارد با استفاده از مواد بیولوژیکی مانند بافت غضروفی خودی یا غیر خودی به صورت تازه یا ذخیره شده در بانک، بدلیل داشتن خاصیت تغییر هویت بافتی و میزان تحریک استخوان سازی در نقیصه تجربی استخوانی، مورد آزمایش قرار گیرد، پس در این راستا در این تحقیق ارزیابی رادیوگرافی پیوند غضروف خودی برای سنجش توان ظرفیت بازسازی استخوان توسط آن به عنوان پر کننده نقیصه و همچنین تحریک استخوان سازی برای سرعت بخشیدن به بهبود نقیصه استخوانی مورد نظر بوده است.

التهاب در ناحیه، حضور ترشحات یا عفونت های احتمالی موضع، بررسی گردید. بخیه ها در روز ۱۲ بعد از جراحی کشیده شد. برای ارزیابی رادیوگرافی به صورت ذیل عمل شد:

برای ارزیابی شکستگی، رادیوگرافهایی در روزهای ۰، ۱۵، ۳۰ و ۶۰ با نمای جانبی بعد از جراحی با به کارگیری فاکتورهای فاصله، کمیت و کیفیت به صورت ثابت کیلو ولت $KVP=42$ ، میلی آمپر ثانیه $M.As=4/5$ و فاصله $F.F.D=100$ cm بوسیله دستگاه Sedecal ساخت کشور اسپانیا در هر دو گروه از خرگوش ها به شکل زیر تهیه گردید و روند التیام در نقایص استخوانی مورد ارزیابی کیفی قرار گرفت.

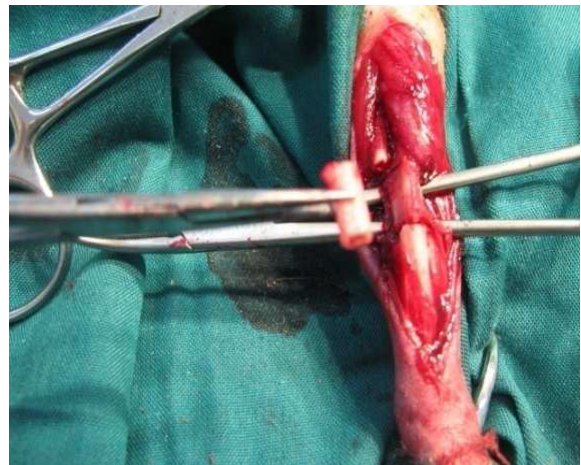
با بررسی رادیوگرافها بر روی نگاتوسکوپ فرایند ترمیم نقیصه استخوان زند زبرین در روزهای ۰، ۱۵، ۳۰ و ۶۰ به دو روش کیفی و کمی فیلم خوانی و مورد بررسی قرار گرفتند.

الف) بررسی کیفی: در این بررسی بر روی یک نگاتوسکوپ ثابت هر کدام از رادیوگرافها قرار گرفته و موارد ذیل ارزیابی شد:

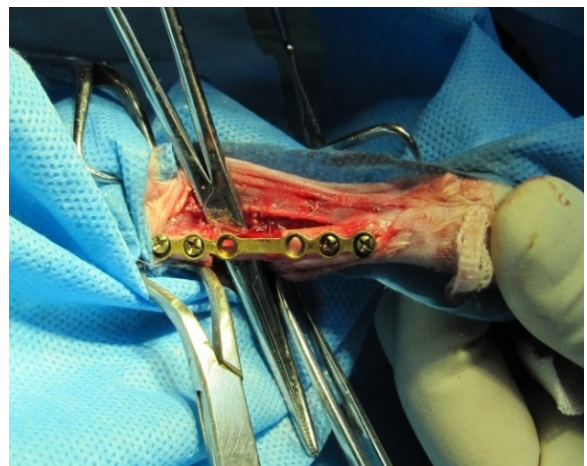
- ۱) میزان کالوس احتمالی تشکیل شده به صورت داخلی (Internal Callus).
- ۲) میزان کالوس احتمالی تشکیل شده به صورت خارجی (External Callus).
- ۳) میزان کالوس احتمالی تشکیل شده به صورت بین کورتکسی (Intercortical Callus).

ب) بررسی کمی: در این بررسی بسته به مقدار کالوس بوجود آمده و مقدار فضایی از نقیصه که توسط کالوس پر شده بود، در هر دو گروه کنترل و آزمایش اعدادی در نظر گرفته شد. به این ترتیب که جدولی با دو ستون ۸ ردیفه، یکی مربوط به گروه کنترل و دیگری مربوط به گروه آزمایش در نظر گرفته شد. در ردیفهای دو ستون به ترتیب اعدادی از ۱ تا ۴ بسته به مقدار کالوس تشکیل شده و مقدار فضای نقیصه که از کالوس

گوش با قیچی در زمان بیهوشی و انجام عمل جراحی بریده شد و پس از گرفتن پوست آن با نرمال سالین شستشو داده می شد و در محل نقیصه قرار می گرفت (تصویر ۲). سپس فاسیا و بافت همبند زیر جلد با بخیه زیر جلدی به صورت سرتاسری ساده با نخ ویکریل ۳ صفر بخیه زده شد (۱۲) و پوست با استفاده از نخ نایلون ۳ صفر به صورت تک ساده دوخته شد.



شکل ۱- قسمت بریده شده استخوان زند زبرین



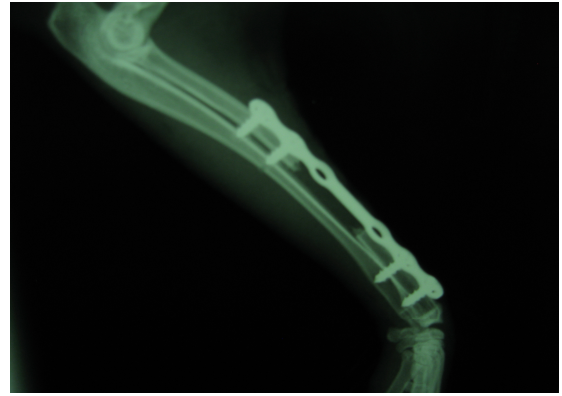
شکل ۲- تثبیت نقیصه ایجاد شده با پیچ و پلاتین

مراقبت های بعد از عمل جراحی:

جهت جلوگیری از عفونت های احتمالی روزانه $60/000$ واحد پنی سیلین G و ۵ میلی گرم جتتامایسین به ازای هر کیلوگرم وزن بدن به صورت عضلانی تزریق شد (۵). این تزریق ها تا روز ۵ بعد از عمل جراحی ادامه داشت. بعد از دو هفته حضور ورم یا



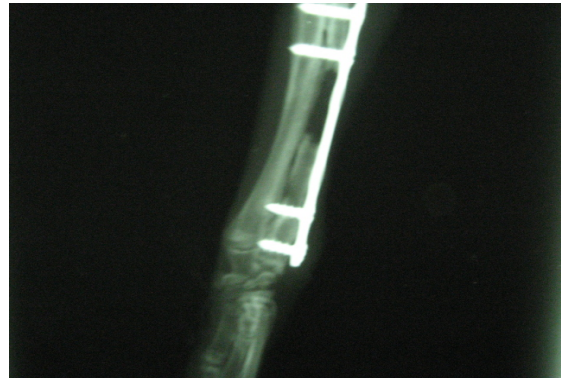
شکل ۷- رادیوگراف گرفته شده از گروه کنترل در روز ۶۰



شکل ۳- رادیوگراف گرفته شده از گروه کنترل در روز ۱۵



شکل ۸- رادیوگراف گرفته شده از گروه آزمایش در روز ۶۰



شکل ۴- رادیوگراف گرفته شده از گروه آزمایش در روز ۱۵



شکل ۵- رادیوگراف گرفته شده از گروه کنترل در روز ۳۰



شکل ۶- رادیوگراف گرفته شده از گروه آزمایش در روز ۳۰

بحث

نتایج این مطالعه نشان داد که بافت غضروف گوش یک زیست ماده سازگار با بدن بوده و دارای خاصیت هدایت و القاء استخوانی می‌باشد. بافت غضروف گوش می‌تواند مقدار شکل‌گیری استخوان جدید را افزایش داده و سرعت بازسازی ضایعه استخوانی را نیز افزایش دهد. افزایش استخوان‌سازی جدید بستگی به اثر بافت غضروف گوش بر روی سلول‌هایی نظیر استئوبلاست‌ها، سلول‌های اولیه مزانشیمال و سلول‌های اندوتلیال که در بازسازی استخوان دخالت می‌کنند، دارد. غضروف عامل تحریک بوجود آمدن عروق خونی در محل نقیصه می‌باشد. و عروق خونی زیربنای ایجاد کالوس استخوانی می‌باشد. پس غضروف عامل تسریع بازسازی نقیصه استخوانی به صورت کالوس استخوانی می‌باشد. همچنین مشخص شد بافت غضروف گوش که در محل نقیصه کار

بین نقیصه شکل گرفته استفاده شود از تشکیل بافت فیروزه در ناحیه جلوگیری می‌شود. بنابراین به نظر می‌رسد غضروف عامل تسریع باز سازی نقیصه استخوانی به صورت کالوس استخوانی باشد، بطوریکه این زمان را به نصف کاهش می‌دهد (۷ و ۱۰). در سال ۲۰۰۵ در یک مطالعه دیگر بر روی پر کردن یک نقیصه در استخوان جمجمه با استفاده از غضروف گوش همان خرگوش و سپس انجام بررسی رادیوگرافی، نشان داد که گرفت غضروفي می‌تواند به عنوان یک ماده جایگزین برای نقیصه جمجمه‌ای بخصوص در نقیصه پیشانی جمجمه می‌تواند باعث بد شکلی وعدم توانایی در انجام عملکرد شود، (۶ و ۱۴). در نهایت با توجه به اینکه استفاده از روش های آماری در یک کار تحقیقی اهمیت بالایی دارد لذا در این بررسی برای مشخص کردن معنی دار بودن یا معنی دار نبودن این تغییرات از روش آماری آزمون میانگین نمونه‌های جفت که یکی از روش‌های آماری می‌باشد استفاده شد به طوریکه به هر یک از تصاویر حاصل از بررسی های رادیوگرافی اعدادی بر حسب میزان تشکیل کالوس در هر دو گروه کنترل و آزمایش داده شد و عملیات آماری مربوط به این آزمون انجام گرفت و نتایجی که حاصل شد به این ترتیب بود که عدد ۰/۰۰۱ برای سطح معنی دار بودن این آزمون بدست آمد و این نشان می‌دهد که تغییرات ایجاد شده در پیوند غضروف در طول ۶۰ روزه در گروه آزمایش در مقایسه با گروه کنترل کاملاً معنی دار بوده است. مطالعه نتایج این تحقیق نشان می‌دهد که غضروف لاله گوش سازگار با بدن می‌باشد و غضروف لاله گوش با قدرت هدایت استخوانی و القای استخوانی باعث افزایش روند التیام می‌شود این ترکیب می‌تواند خواص استخوان‌زایی، القای استخوانی و هدایت استخوانی را افزایش دهد. این تکنیک نسبتاً ساده، قابل انجام و کارآمد است ضمناً آنچه از این بررسی حاصل شد، این بود که مقایسه نتایج بالینی حیوانات گروه‌های کنترل و آزمایش نشان دهنده آن است که خرگوش‌ها در

گذاشته شده بود در مقایسه با گروه کنترل، که نقیصه فاقد غضروف گوش بود، عامل تحریک ایجاد کالوس استخوانی در گروه آزمایش بود که نسبت به گروه کنترل سریعتر و زودتر اتفاق می‌افتاد که این با نتایجی که توسط Haktanir و همکاران، ۲۰۰۵ گزارش شده بود مطابقت دارد (۷ و ۳). همچنین در روز ۳۰ در گروه آزمایش کالوس داخلی ایجاد شد اما در گروه کنترل در روز ۳۰ تغییر چشمگیری مشاهده نگردید و در روز ۶۰ در گروه آزمایش کالوس داخلی و کالوس بین کورتکسی مشاهده گردید اما در گروه کنترل فقط کالوس داخلی مشاهده گردید. به عبارتی آنچه در روز ۳۰ در گروه آزمایش دیده شد در روز ۶۰ در گروه کنترل مشاهده گردید، که تمامی اینها دال بر این است که غضروف عامل تحریک بوجود آمدن عروق خونی در محل نقیصه می‌باشد و عروق خونی زیربنای ایجاد کالوس استخوانی می‌باشد (۹). در گروه آزمایش در روز صفر تصاویر رادیوگرافی حاکی از قرار گرفتن درست داربست استخوانی در قسمت میانی شفت دیافیز زند زبرین است که از نظر دانسیته با تفاوت جزئی نسبت به استخوان میزبان قابل شناسایی است، بین روزهای ۱۵ تا ۳۰ واکنش تشکیل کالوس بدون نشانه‌ای از جذب داربست قابل مشاهده است، در روز ۳۰ بافت غضروف گوش در طی پروسه جذب از هر چهار طرف بود و رادیوگرافی نشان‌دهنده جایگزینی آن با استخوان جدید رشد یافته است، در روز ۶۰ کورتکس در ناحیه نقیصه در راستای محور طولی شروع به پل زدن از طریق تشکیل بافت استخوان جدید می‌کند و پروسه التیام سازماندهی می‌شود، تشکیل پل کامل و ایجاد کالوس بین کورتکسی دانسیته مشابه استخوان دیده می‌شود که داربست را در بر می‌گیرد، این مشاهدات با یافته‌های گرفت و همکاران مطابقت می‌کند (۶). همچنین Mahl و همکاران، ۲۰۰۸ نشان دادند که تشکیل بافت فیروزه بین دو قسمت استخوان باعث عدم جوش خوردگی استخوان خواهد شد ولی چنانچه از یک ماده پرکننده

منابع

- 1- Bauer, T. W., Muschler, G. F., (2000): Bone graft materials. *Clinical Orthopedy*. 371: 10-27.
 - 2- Bronner, F., Farach-Carson, M. C., Rodan, G. A., (2003): *Bone Formation (Topics in Bone Biology)*. Springer. 1st Edition:3-50.
 - 3- Cotti E., Campisi, G., (2004): Advanced radiographic techniques for the detection of lesions in bone. *Endod Topics*. 7:52-72
 - 4- Fleknel, P., (2009): *Laboratory Animal Anesthesia*. 3th edition, WB Saunders Co. Philadelphia, Elsevier Inc:281.
 - 5- Fossum, T. W., (2007) : *Small Animals Surgery*. 3rd ed. st louis: Mosby Publication: 821.
 - 6- Graf, M. V., Stahl-Kent, T., Ben-Ami, S., Strauss, A., Yand, A., Itzhak, Y., (2008): Radiographic and Sonographic detection of occult bone fractures. *Pediatrics Radiology*. 18: 383-385.
 - 7- Haktanir, A., Uysal, O. A and Yildiz, L., (2005): Radiologic and histologic assessment of diced cartilage graft for cranial bone defects of rabbits: An experimental study. *Aesthesia Plastica Surgery*. 29: 195-201.
 - 8- Hasenwinkel, J., (2004): *Encyclopedia of Biomaterials and Biomedical engineering*: 170-179.
 - 9- Henry, G. A., (2007): *Fracture Healing and Complications*. In: *Textbook of Veterinary Diagnostic Radiology*, Thrall, D. E. 5th ed. WB Saunders Co. Philadelphia: 284-304.
 - 10- Mahl, C. R. W., Fontanella, V., (2008): Evaluation by digital subtraction radiography of induced changes in the bone density of the female rat mandible. *Dentomaxillofac Radiol*. 37:438-44.
- هر ۲ گروه از فعالیت بدنی، میزان لنگش و جست و خیز یکسانی برخوردار بوده‌اند. به نظر می‌رسد که گرافت غضروفی علاوه بر خاصیت هدایت رشد استخوان دارای خاصیت القای استخوانی نیز هست. در برخی از منابع به صراحت اعلام شده که گرافت غضروفی، استخوان‌سازی را از طریق تحریک استئوبلاست‌ها و کمک به تفکیک و تمایز این سلول‌ها تحریک می‌نماید. به عبارت دیگر گرافت غضروفی سبب تحریک پروژنیوتورهای استئوژنیک، رشد، تقسیم و تفکیک و تمایز و در نتیجه تحریک فعالیت استخوان‌سازی خواهد شد. نتیجه این است که گرافت غضروفی در مقایسه با نانو هیدروکسی آپاتیت که رحیم زاده و همکاران در سال ۲۰۱۲ در تحقیقی مشابه بکار بردند دارای خاصیت القاء استخوانی (استئوژن) و هدایت استخوانی بهتر و مطلوبتری است (۱۳).

- 11- Miranda, E. S., Cradoso, F. T. S., Filho, J. F. M., Barreto, M. R., Teixeira, R. M., Wanderley, A. L., Fernandes, K. E., (2005): Organic and inorganic bone graft use in Rabbit 's radius surgical fractures repair: An experimental and comparative study. *Acta Orthopedy Brazil*. 13, 5:245-248.
- 12- Piermattei, D. L., (2000) *Small animal Orthopedics and Fracture Repair*. WB Saunders Co. Philadelphia: 81.
- 13- Rahimzadeh, R., Veshkini, A., Sharifi, D., Hesaraki, S., (2012): Value of color Doppler ultrasonography and radiography for the assessment of the cancellous bone scaffold coated with nano-hydroxyapatite in repair of radial bone in rabbit. *Acta Cirúrgica Brasileira* . 27, 2:148-154.
- 14- Saikku-Backstrom, A., Raiha, J. E., Valimaa, T et al., (2005): Repair of radial fractures in toy breed dogs with self-reinforced biodegradable bone plates, metal screws, and light-weight external coaptation. *Veterinary. Surgery*. 34:11.