ارزیابی رادیوگرافی اثر ماتریکس بدون مواد معدنی استخوان بر القاء و هدایت استخوان سازی در ترمیم نقیصه استخوان فک پایین گربه

رسول رحیم‌زاده[1*]، فواد سعدی[2]، پژمان ناظم زمردی[1]، مهدی کوثری[3]

تاریخ دریافت: ۹۲/۱/۱۵ تاریخ پذیرش: ۹۲/۱۱/۱۲

چکیده

هدف اصلی در ترمیم شکستگی‌های فک پایین ایجاد ساختار یکپارچه استخوانی، جفت شدگی طبیعی دندانها و بازگشت حیوان به تغذیه طبیعی است. در این تحقیق تعداد ۱۰ گربه بالغ به دو گروه تقسیم شدند و پشت اولین دندان آسیا در استخوان نیم فک پایین سمت راست برای ایجاد نقیصه به اندازه ۵ میلی متر در نظر گرفته شد، در هر دو گروه محل نقیصه توسط ۴ پیچ و پلاک کوچک تثبیت شد و ماتریکس بدون مواد معدنی استخوان (DBM=Demineralized Bone Matrix) برای پر کردن شکاف پس از تثبیت شکستگی در گروه دوم مورد استفاده قرار گرفت؛ سپس در روزهای ۰، ۱۵، ۳۰ و ۶۰ حیوانات، هم در گروه آزمایش و هم در گروه کنترل تحت بررسی‌های رادیوگرافی قرار گرفتند. نتایج که بر اساس سیستم درجه بندی لین و سندهو بسته به مقدار کالوس بوجود آمده و مقدار فضایی از نقیصه که توسط کالوس پر شده بود، معدنی شدن و بازسازی مورد مقایسه قرار گرفتند، پس از تجزیه و تحلیل آماری نشان دادند که اختلاف آماری معنی داری بین دو گروه وجود داشت($P < 0.05$) این تائید کننده شکل گیری سریعتر استخوان در گروه آزمایش نسبت به گروه کنترل و قابلیت بیشتر ماده بنیادی بدون مواد معدنی استخوان دربازسازی بافت استخوانی فک است.

واژگان کلیدی: پیوند استخوانی، رادیوگرافی، گربه، فک پائین، ماده بنیادی بدون مواد معدنی استخوان.

مقدمه

یکی از مسایل مهم در جراحی‌های فک و صورت بازسازی استخوان از دست رفته در ضایعات استخوانی ایجاد شده می‌باشد. امروزه از مواد جانشین استخوان برای کمک به روند بازسازی استخوان استفاده می‌شود، تکنیک‌های پیوند استخوانی و مواد مورد استفاده برای پر کردن نقصیه جهت بازگرداندن شکل و عملکرد استخوان از دست رفته معمولا به دلیل مشکلات خاصی از قبیل پس زدن پیوند، محدودیت دهنده استخوان، افزایش زمان عمل، عفونت ها، درد و در نهایت مرگ و میر احتمالی با محدودیت مواجه هستند (۳و٤). به منظور رفع این محدودیت‌ها طی چندین دهه گذشته تحقیقات دامنه داری جهت یافتن ماده‌ای که بتواند جایگزین مناسبی برای ترمیم بافت استخوانی باشد، انجام گرفته و موادی به عنوان جایگزین استخوانی، معرفی و مورد استفاده واقع شده‌اند مواد سنتزی متعدد به عنوان جایگزین‌های استخوان و جایگزین‌های مواد

۱- استادیار، گروه علوم درمانگاهی،واحد سنندج، دانشگاه آزاد اسلامی، سنندج، ایران
۲- استادیار، گروه دامپزشکی، واحد مهاباد، دانشگاه آزاد اسلامی ، مهاباد، ایران
۳- دانش آموخته دکترای حرفه‌ای دامپزشکی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه آزاد اسلامی سنندج، سنندج، ایران
*- پست الکترونیکی نویسنده مسئول: drrahimzadeh@iausdj.ac.ir

استخوانی، توسعه یافته‌اند (۵). ماده بنیادی بدون مواد معدنی استخوان (DBM=Demineralized Bone Matrix) یک گزینه جالب است که دارای پتانسیل هدایت استخوانی و القای استخوان سازی است و به نظر می‌رسد که غیر معدنی سازی استخوان دارای مزایایی است که آن را با استخوان خودی قابل مقایسه می‌کند، در تلاش برای تقویت مواد پیوندی و افزایش میزان یکی شدن پیوند با استخوان، استفاده از ماده بنیادی بدون مواد معدنی استخوان (DBM) توسعه یافته و متداول تر شده است(۲و۲۱). ترمیم و دژنرسانس هر بافتی به تکثیر سلولی و ساخت ماده زمینه‌ای جدید در ناحیه صدمه دیده بستگی دارد، محققین زیادی بر ترمیم موفقیت آمیز نقایص استخوانی پس از استفاده از ماده بنیادی بدون مواد معدنی استخوان تاکید کرده اند. از آنجا که این مواد از نظر خواص فیزیکی و شیمیایی دارای شباهت‌های نزدیکی با ساختار طبیعی استخوان می‌باشند، در صورت استفاده باعث تحریک کمتر بافت میزبان و در نتیجه بروز واکنش‌های آماسی کمتر می‌گردند(۱۳ و ۱۹). بنابراین تحقیقات دامنه داری در زمینه ظرفیت القاء استخوان سازی این ماده صورت گرفته است. هدف اصلی این پژوهش این است که مشکلاتی از قبیل ناسازگاری زیستی و نیاز به انواع پیوندهای استخوانی برطرف گردند و ایجاد ساختار یکپارچه استخوانی، جفت شدگی طبیعی دندانها و بازگشت حیوان به تغذیه طبیعی در مدت زمان کوتاهتر بدست آید.

مواد و روش کار

این مطالعه مطابق قوانین و اصول اخلاقی در مورد آزمایشهای حیوانی انجام شده و حیوانات در تمام دوره این تحقیق تحت مراقبت بودند (۱). جهت انجام رادیوگرافی و ارزیابی‌های بعدی تعداد ۱۰ گربه بالغ سالم با وزن ۳/۵-۳ کیلوگرم انتخاب گردیدند.

مراحل جراحی: به حیوانات ۱۲ ساعت قبل از جراحی پرهیز کامل غذایی و ۲ ساعت قبل از جراحی پرهیز از آب داده شد، جهت آرام کردن حیوانات از آسه پرومازین ۲٪ به میزان ۰/۵ میلی گرم به ازای هر کیلوگرم و برای ایجاد بیهوشی از کتامین به میزان ۱۵ میلی گرم به ازای هر کیلوگرم و زایلازین ۲ میلی گرم به ازای هر کیلوگرم استفاده شد. پس از ایجاد بیهوشی و حالت گماری دام به پهلوی چپ موضع عمل با بتادین اسکراپ و محلول بتادین الکل شستشو و ضد عفونی شد، سپس موضع عمل شان گذاری شد. بی حسی موضعی آلوئولار تحتانی با مپی واکائین ۷ میلی گرم به ازای هر کیلوگرم و اپی نفرین انجام شد. استخوان نیم فک پائین، پشت اولین دندان آسیا بصورت عرضی قطع شد بدین صورت که ابتدا برش در کورتکس استخوان در سطح زبانی استخوان و سپس در سطح گونه‌ای با استفاده از مته دستی انجام شد و برش دیگر با فاصله ٤ میلی متر در سطح عقبی فک انجام شد و قطعه استخوان جدا شده برداشته شد. کتوپروفن ۲ میلی گرم به ازای هر کیلوگرم بعد از عمل به مدت ۳ و انروفلوکساسین ۵ میلی گرم به ازای هر کیلوگرم تا ۵ روز تجویز شد. مخاط لثه با نخ پلی گلاکتین ۹۱۰ چهار صفر بخیه شد، نقیصه استخوانی به اندازه ۵ میلی متر در نیم فک پائین سمت راست و بصورت تمام قطر در عرض فک ایجاد شد، سپس حیوانات به دو گروه پنج تایی تقسیم شدند، پس از تثبیت شکاف با پلاک کوچک تیتانیومی شش سوراخه (6-hole titanium miniplate 1.5) و٤ پیچ (bicortical screw)، محل نقیصه در گروه یک (گروه کنترل) خالی گذاشته شد در حالیکه در گروه دو (گروه آزمایش) محل نقیصه با ماده بنیادی بدون مواد معدنی استخوان به شکل ژل (Grafton DBM Matrix) پر شد. لایه زیر جلدی با نخ (چهار صفر) پلی گلاکتین۹۱۰ بسته شد و پوست توسط نخ نایلون (چهار صفر) بخیه شد، بخیه پوست بعد از ۷ روز برداشته شد. تغذیه خوراکی ٢٤ ساعت پس از جراحی با مواد غذایی نرم و کنسرو شده انجام

شد و تا شش هفته به اینصورت ادامه داشت. برای ارزیابی نحوه التیام نقیصه، رادیوگراف هایی با دستگاه Intra- Planmeca ساخت کشور فنلاند و تنظیم دستگاه براساس ٥٦ کیلوولت و هشت میلی آمپر و ۰/٤ ثانیه و فیلمهای رادیوگرافی E-Speed کداک آمریکا در روز های۰-۱۵-۳۰ و۶۰ با نمای جانبی مایل و شکمی پشتی (شکل۱) و رادیوگرافی داخل دهانی از استخوان فک بعد از جراحی در هر دو گروه از گربه‌ها تهیه گردید و سپس هر کدام از رادیوگراف‌ها بر روی نگاتوسکوپ قرار گرفتند و فرایند ترمیم نقیصه استخوان فک در رادیوگراف‌ها به دو روش کیفی و کمی فیلم خوانی شد و مورد بررسی قرار گرفتند.

بررسی کیفی: در این بررسی هر کدام از رادیوگرافها روی نگاتوسکوپ قرارگرفته و موارد زیر ارزیابی شد:

- میزان کالوس احتمالی تشکیل شده به صورت داخلی (Internal Callus).
- میزان کالوس احتمالی تشکیل شده به صورت خارجی (External Callus) .
- میزان کالوس احتمالی تشکیل شده به صورت بین کورتکسی (Intercortical Callus) .
- تحریک استخوان‌های مجاور نقیصه به شروع روند استخوان سازی (Osteo Induction) .
- میزان باقی ماندن اُپسیتی (Opacity) گرافت در محل نقیصه و نقش آن در هدایت استخوان (Osteo Conductivity) طی روند التیام.
- میزان پر شدن نقیصه از کالوس التیامی.

بررسی کمی رادیوگرافها : ترمیم استخوان یکی از قابل توجه‌ترین فرآیندهای ترمیم بدن می‌باشد، چرا که نتیجه آن تشکیل بافت اسکار نیست بلکه ترمیم است و حاصل آن بازسازی حقیقی بافت مصدوم است که خیلی شبیه به منشاء ایجاد استخوان می‌باشد(۱۸). پارامترهای بدست آمده از این نتایج که بر اساس سیستم درجه بندی لین و سندهو (۷) بسته به مقدار کالوس بوجود آمده و مقدار فضایی از نقیصه که توسط کالوس پر شده بود، به ترتیب اعدادی از ۰ تا ٤ بسته به مقدار کالوس تشکیل شده و مقدار فضای نقیصه که از کالوس پر شده، داده شد، یعنی اگر کالوس تشکیل نشده باشد ویا فضای نقیصه به صورت کاملا خالی باشد عدد ۰ و اگر کالوس به صورت کامل تشکیل شده باشد یا فضای نقیصه به صورت کامل پر شده باشدعدد ٤ در نظر گرفته شد. بدین ترتیب عدد ۲ برای تشکیل کالوس وپر شدن فضای نقیصه به مقدار کم وعدد ۳ برای تشکیل کالوس و پر شدن فضای نقیصه به مقدارزیاد در نظر گرفته شد (۷).

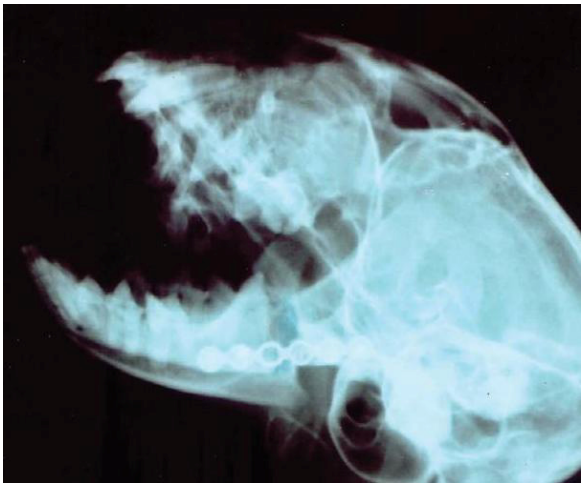
نتایج

در هفته دوم در گروه کنترل و آزمایش محل نقیصه ایجاد شده بصورت رادیولوسنت دیده می‌شود ولی در گروه آزمایش مقداری دانسیته بالاتر و دارای رادیواپاسیته بیشتری است (شکل ۲و۳)، در هفته چهارم ناحیه نقیصه در گروه آزمایش توسط کالوس پر شده، هم در حاشیه و هم در منطقه مرکزی نقیصه دیده می‌شود، در گروه کنترل نقاطی جزئی از تشکیل کالوس در حاشیه‌ها دیده می‌شود. در هفته هشتم نقیصه ایجاد شده به سختی مشاهده می‌شود و تراکم استخوان ایجاد شده مشابه استخوان میزبان است در حالیکه در گروه کنترل یک منطقه رادیولوسنت در ناحیه نقیصه مشاهده می‌شود (شکل ٤و٥).

ارزیابی نتایج رادیوگرافی با توجه به مقیاس ارزیابی لین و ساندهو بین ۰ و ٤ انجام شد (جدول ۱). تجزیه وتحلیل نتایج آماری با استفاده از روش آماری SPSS از نوع آزمون‌های ناپارامتری به نام آزمون میانگین نمونه‌های جفت انجام گرفته و نتایج نشان داد که این بررسی کاملا معنی‌دار بوده است ($P < 0.05$).

جدول ١- ارزیابی نتایج رادیوگرافی با توجه به مقیاس ارزیابی لین و ساندهو(٧).

گروه آزمایش	گروه کنترل	نتایج رادیوگرافیک
٣/٢٠	١/٣٠	مقدار کالوس بوجود آمده
٣/٧٠	٢	التیام و پیوستگی در ناحیه نقیصه
١	٠/٥	تشکیل کالوس بین کورتکسی و بازسازی
٧/٩٠	٣/٨٠	مجموع



شکل١- رادیوگراف جانبی مایل دو هفته بعد از جراحی در گروه آزمایش

شکل ٢- رادیوگراف داخل دهانی گروه کنترل یکماه بعد از جراحی

شکل٣ - رادیوگراف داخل دهانی گروه آزمایش یکماه بعد از جراحی

شکل ٤- رادیوگرافی داخل دهانی از گروه کنترل دو بعد از جراحی

شکل ٥- رادیوگرافی داخل دهانی از گروه آزمایش دو بعد از جراحی

هیچ گونه عارضه بالینی و غیرمنتظره‌ای در این حیوانات مشاهده نشد و گربه‌ها دارای فعالیت بدنی طبیعی بودند. معاینات بالینی از فک بعمل آمد که قرارگیری و جفت شدگی دندانها روی هم را تائید کرد.

بحث

در این تحقیق از ماده بنیادی بدون مواد معدنی استخوان استفاده شد، حضور دندنها در فک روند ترمیم آن را نسبت به سایر استخوانها متفاوت می‌کند، بعد از برداشت استخوان ناحیه نقیصه جریان خون اطراف استخوانی از طریق بافتهای همبند به سمت ناحیه نقیصه گسترش پیدا می‌کند(۱۶). پلاک کوچک در سطح شکمی گونه‌ای فک استفاده شد تا از ایجاد آسیب به ریشه دندانها جلوگیری شود با وجود ساختار آناتومیک کوتاه استخوان فک پائین یکی از پرکارترین استخوان‌های بدن است و بدلیل وجود عضلات بزرگ ممکن است در طول مداخله جراحی دچار مشکل شود(۱و۱۰)، ولیکن معاینات بالینی از فک قرارگیری و جفت شدگی دندانها روی هم را تائید کرد. در رادیوگرافهای انجام شده بلافاصله پس از جراحی در محل نقیصه در گروه کنترل و مقدار اپاسیته کم ناشی از حضور مواد پیوندی در گروه آزمایش دیده می‌شود، رادیوگرافهای داخل دهانی صحت و دقت آزمایشات رایوگرافیک را در تکمیل و بهبود نتایج نشان می‌دهد که در بین تحقیقات انجام شده در این زمینه در بسیاری مطالعات به رادیوگرافهای جانبی مایل و شکمی پشتی اکتفا شده به مانند مطالعات Sverzut و همکاران در سال ۲۰۰۸ ولیکن گزارشات Kern وهمکاران در سال ۱۹۹۵ نیز دقت بالاتر رادیوگرافهای داخل دهانی در روند ارزیابی این تحقیقات را نشان می‌دهد(۶،۱۷). چراکه روهم افتادگی استخوانهای جمجمه در تصاویر رادیوگرافی ممکن است اشتباه در درستی نتایج را در برداشته باشد(۹). ترمیم با ماده بنیادی بدون مواد معدنی استخوان نسبت به پیوند خودی با موفقیت بیشتری همراه است، Pieske و همکاران در سال ۲۰۰۹ با مقایسه استفاده ماده بنیادی بدون مواد معدنی استخوان و پیوند خودی به این نتیجه رسیدند که این ماده بر پیوند خودی در پیشرفت درمان برتری دارد و سبب کاهش عوارض جانبی می‌شود بنابراین ماده بنیادی بدون مواد معدنی استخوان یک جایگزین مناسب برای پیوند خودی است که به عنوان استاندارد طلائی در پیوندهای استخوانی محسوب می‌شود (۸ ،۱۲ و ۱۴). استفاده از پیوند خودی که در اکثر مقالات برای پیوندهای ناحیه فک مورد استفاده قرارگرفته دارای عوارضی چون درد، حساسیت و عفونی شدن در ناحیه عمل می‌شود. در یک تحقیق نشان داده شد که ۲۵ درصد افرادی که از ستیغ خاصره آنها پیوند برداشته شد تا ۵ سال بعد از عمل احساس درد دارند(۱۱ و ۲۰). سرعت ترمیم نقیصه استخوانی و چگالی استخوان تشکیل شده نیز در استفاده از ماده بنیادی بدون مواد معدنی استخوان بیشتر است، این ترکیب دارای خواص یک ماده پیوندی در بین انواع پیوندی جایگزین است و طبق مشاهدات Rabia و همکاران در سال ۱۹۹۶ این ترکیب ظرفیت القائ استخوانسازی را به هر دو روش غضروفی و درون غشائی با ارجحیت روش درون غشائی داراست ازاین رو برای ترمیم نقایص استخوانی جمجمه مورد استفاده قرار می‌گیرد (۱۵). نتایج مطالعات هیستوپاتولوژی نیز نشان می‌دهد که ماده بنیادی غیر معدنی استخوان توانسته است سلول‌های تمایز نیافته را تحریک و به پرواستئوبلاست‌ها و استئوبلاست‌ها تبدیل نماید به طوری که استخوان‌سازی در این گروه در مقایسه با سایر گروه‌های پیوند، یک ماده مناسب برای پیوند است. بطورکلی در این مطالعه به نظر می‌رسد که استفاده از ماده بنیادی بدون مواد معدنی استخوان به علت عدم مشکلاتی نظیر تحمل جراحی اضافه جهت تهیه پیوند خودی، افزایش اضطراب برای بیمار و تحمل درد بیشتر، از دست دادن خون زیاد در حین جراحی و احتمال عفونت و غیره در درمان بیماران دارای ضایعات استخوانی ارجح است.

منابع

1- Bolourian, R., Lazow, S., Berger, J., (2002): Transoral 2.0-mm miniplate fixation of mandibular fractures plus 2 weeks' maxillomandibular fixation: A prospective. Journal of Oral and Maxillofacial Surgery . 60, 2: 167-170..

2- Han, B., Tang, B., Nimni, M., (2003): Quantitative and sensitive in vitro assay for osteoinductive activity of demineralized bone matrix. J Orthop Res. 21:648–654.

3- Honsy, M. H., Sharwy, M., (1985): Osteoinduction in rhesus monkeys using demineralized bone powder allografts. Oral Maxillofacial Surg .43:837-844.

4- Johnson, K. D., Frierson, K. E., Keller, T.S., Cook, C., Scheinberg, R., Zerwekh, J., Meyers, L., Sciadini, M. F., (1996): Porous ceramics as bone graft substitutes in long bone defects: a biomechanical, histological, and radiographic analysis. J Orthop Res.14,3:351-69.

5- Kals, A. A., Dicesare, P. E., (1995): Osteoinductive agent, Basic Sciences and clinical application. Am J Orthop. 24:752-761.

6- Kern, D. A., Smith, M. M., Stevenson, S., Moon, M., Saunders, G. K., Irby, M.H., Dyer, K. R., (1995): Evaluation of three fixation techniques for repair of mandibular fractures in dogs. J Am Vet Med Assoc.12:1883-90.

7- Lane, J. M., Sandhu, H. S., (1987): Current approaches to experimental bone grafting. Orthop Clin North Am. 18:213–225

8- Lidbetter, D. A., Millis, D. L., Daniel, G. B., Stapleton.,(2003): The effects of demineralized bone matrix and cancellous bone graft on an unstable ostectomy model in dogs. Veterinary Orthopedic Society.

9- 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.

10- Maretta, S. M., Schrader, S. C., Matthiesen, D. T., (1990): Problems Associated with the Management and Treatment of Jaw Fractures. In: Problems in Veterinary Medicine (ed: Maretta SM), JB Lippincott Co, Philadelphia. 220-247.

11- Moghadam, H. G., Sandor, G. K., Holmes, H. H., Clokie, C. M., (2004): Histomorphometric evaluation of bone regeneration using allogenic and alloplastic bone substitutes. Oral & Maxillofacial Surg. 62:202-213.

12- Ozdemir, M. T., Kir, M.C., (2011): Repair of long bone defects with demineralized bone matrix and autogenous bone composite. Indian J Orthop. 45:226-30

13- Piermattei, D. L., (1997): Small Animall Orthopedics and Fracture Repair. WB Saunders CO. Philadelphia: 34-43.

14- Pieske, O., Wittmann, A., Zaspel, J., Löffler, T.,(2009): Bianka fixation of ununited long bones Rubenbauer, Heiko Trentzsch and Stefan Piltz., Autologous bone graft versus demineralized bone matrix in internal ; Journal of Trauma Management & Outcomes. 3:11

15- Rabia, A. B., Deny, Y. M., Samman, N., (1996):The effect of demineralized bone matrix in the healing of intramembranous bone grafts in rabbit skull defects. Dent Res. 75:1051-1054.

16- Roush, J.K., Howard, P.E., Wilson, J.W. (1989): Normal blood supply to the canine mandible and mandibular teeth. Am J Vet Res.50: 904-907.

17- Sverzut, C.E., Faria, P.E., Magdalena, C.M., Trivellato, A.E., Mello-Filho, F.V., Paccola, C.A., Gogolewski, S., Salata, L.A.,(2008): Reconstruction of mandibular segmental defects using the guided-bone regeneration technique with polyglactide membranes and/or autogenous bone graft: a preliminary study on the influence of membrane permeability. J Oral Maxillofac Surg.;66:647-56.

18- Toal, R.L., (1994): Fracture Healing and Complications. In: Textbook of Veterinary Diagnostic Radiology, Thrall, DE. 2th ed. WB Saunders Co. Philadelphia: 96-114.

19- Wang, J. C., Alanay, A., Mark, D., Kanim, L. E. A. , Campbell, P. A., Dawson, E. G., Lieberman, J. R., (2007): A comparison of commercially available demineralized bone matrix for spinal fusion, Eur Spine J. 16:1233–1240.

20- Yamashita, K., (1991): Analysis on initial calcification induced by bone matrix gelatin. Am Biology. 32:166-173.

21- Zhang, M., Ralph, M., (1991): Effect of the demineralization process on the osteoinductivity of demineralized bone matrix. J Periodontal;68:1085-1092.