

## بررسی هیستولوژیک و هیستومورفومتریک کاربرد عاج دمینرالیزه اتوژن در ترمیم نقص استخوانی ایجاد شده در مجاورت ایمپلنت کاشته شده در استخوان تیبیای خرگوش

دکتر حمیدرضا عظیمی لیسار\*

### چکیده

**سابقه و هدف:** استفاده از ایمپلنت برای جایگزینی دندان‌های از دست رفته به کیفیت و کمیت استخوان بستگی دارد. یکی از راههای کسب کمیت و کیفیت بهتر استفاده از پیوندها مانند پیوند استخوان از خود شخص، بیواس و عاج دمینرالیزه است. هدف از این تحقیق بررسی هیستومورفومتریک کاربرد عاج دمینرالیزه در افزایش کمیت استخوان و استوایتیگراسیون در استخوان تیبیای خرگوش می‌باشد. **مواد و روشها:** در این تحقیق تجربی از پنج خرگوش سفید نیوزلندی ماده استفاده شد. یک سوراخ به قطر ۳/۵ میلی‌متر برای قرار دادن ایمپلنت ایجاد شد. در هر استخوان تیبیا یک ایمپلنت کاشته شد بنابراین هر خرگوش دارای دو ایمپلنت بود. در قسمت دیستالی آن سوراخ یک ضایعه به قطر ۶ میلی‌متر که تمامی ضخامت استخوان را در بر گرفته بود، ایجاد شد. یکی از ضایعه‌ها با عاج دمینرالیزه اتوژن (ADDM) پر شد و دیگری خالی رها شد. روی هر دو آنها با غشا Bioguid (ساخت کشور ایتالیا) که قابل جذب و از جنس کلاژن بود پوشیده شد. خرگوش در هفته‌های سوم، پنجم، هفتم، نهم و یازدهم کشته شده و از هر خرگوش دو نمونه بدست آمد. سپس نمونه‌ها دکلسیفیه شده، ایمپلنت آنها خارج شده برای ارزیابی هیستومورفومتریک و هیستولوژیک به لابراتوار فرستاده شد. **یافته‌ها:** ارزیابی هیستومورفومتریک نشان داد که میزان تماس ایمپلنت با استخوان در قسمت کورتکس در هر دو گروه کنترل و تجربی یکسان است اما در ناحیه مغز استخوان میانگین طول تماس استخوان با ایمپلنت در هفته‌های مختلف در گروه تجربی که در آن از عاج دمینرالیزه استفاده شده بود خیلی بیشتر از گروه شاهد بود (گروه تجربی=۱۹٪، گروه شاهد=۰٪). سطح متوسط استخوان تازه تشکیل شده در بین پیچ‌ها در هفته‌های مختلف در گروه تجربی بیش از گروه شاهد بود (گروه تجربی=۳۵٪، گروه شاهد=۲۳٪). **نتیجه‌گیری:** در این مطالعه هیستومورفومتریک عاج دمینرالیزه اتوژن منجر به تشکیل استخوان جدید در مغز استخوان در اطراف ایمپلنت شد و میزان استوایتیگراسیون افزایش پیدا کرد.

**کلید واژگان:** خرگوش، ایمپلنت بیوهوریزون، استخوان‌سازی

تاریخ دریافت مقاله: ۱۳۸۵/۴/۱۳ تاریخ اصلاح نهایی: ۱۳۸۵/۸/۷ تاریخ تأیید مقاله: ۱۳۸۵/۹/۸

مجله دانشکده دندانپزشکی دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی، دوره ۲۶، شماره ۱، بهار ۱۳۸۷، ۶۴-۷۲

### مقدمه

با ظهور ایمپلانت تحول بزرگی در علم دندانپزشکی ایجاد شد و مساله جایگزین کردن دندان‌های از دست رفته به شکل نوین مطرح و بسیاری از مشکلات بیماران مرتفع گردید اما مانند هر علم دیگری این علم نیز با مشکلات خاصی روبرو است. نقایص استخوانی از جمله مسایل مربوط به کاشت ایمپلنت می‌باشند. از علل این نقایص می‌توان به تراما، عفونت و رزکسیون تومورها اشاره کرد (۱).  
به منظور اصلاح و ترمیم نقایص استخوانی از گرفت چه به صورت اتوژن چه به صورت الوژن استفاده می‌شود که خود این مواد نیز با مشکلات خاصی از قبیل پس زدن، محدودیت استخوان دهنده و عفونت همراه می‌باشند (۲).  
به منظور رفع این محدودیت در طی چندین دهه گذشته تحقیقات دامنه‌داری جهت یافتن ماده‌ای که بتواند جایگزین مناسبی برای گرفت استخوانی باشد انجام گرفته و موادی معرفی و استفاده شده‌اند (۳).

با ظهور ایمپلانت تحول بزرگی در علم دندانپزشکی ایجاد شد و مساله جایگزین کردن دندان‌های از دست رفته به شکل نوین مطرح و بسیاری از مشکلات بیماران مرتفع گردید اما مانند هر علم دیگری این علم نیز با مشکلات خاصی روبرو است. نقایص استخوانی از جمله مسایل مربوط به کاشت ایمپلنت می‌باشند. از علل این نقایص می‌توان به تراما، عفونت و رزکسیون تومورها اشاره کرد (۱).

می‌باشند به صورتی که بر میزان موفقیت ایمپلنت تاثیر سو می‌گذارند زیرا که احتمال جابجایی و شکست ایمپلنت بالا است.

Carvalho در سال ۲۰۰۴ در مطالعه بر روی تعدادی خرگوش نتیجه‌گیری کرد که عاج دیمینرالیزه هموژن موجب تسریع در ترمیم نقایص استخوانی می‌شود (۷).

Gomes و همکاران (۲۰۰۱) نقایص استخوانی ایجاد شده در استخوان پاریتال تعدادی خرگوش را با عاج دیمینرالیزه اتوژن پر کردند و از غشا آمینوتیک به عنوان غشا استفاده کردند. نتیجه نشان داد که سرعت ترمیم در گروهی که از عاج و غشا آمینوتیک استفاده شده بود بیش از گروهی بود که فقط از غشا آمینوتیک استفاده شده بود (۸).

هدف از مطالعه حاضر بررسی هیستومورفومتریک کاربرد عاج دیمینرالیزه در افزایش استخوان و ساخته شدن استخوان در مغز استخوان حاوی چربی بود. در واقع در صورت بروز چنین اتفاقی تراکم استخوان افزایش یافته و در صورتی که این استخوان با ایمپلنت اتصال برقرار کند می‌تواند میزان موفقیت ایمپلنت را افزایش دهد.

### مواد و روشها

این یک تحقیق تجربی است که در دو مرحله انجام شد. در مرحله اول از ۵ سر خرگوش ماده سفید نیوزلندی به وزن ۲ کیلوگرم، ماتریکس عاج دیمینرالیزه اتوژن (Autogenous Demineralized Dentin (ADDM) (با استفاده از دندان سانترال بالا) تهیه شد (۱).

در مرحله دوم ADDM در نقایص ایجاد شده در مجاور ایمپلنت‌های کاشته شده (یک ایمپلنت در هر پا) در استخوان تیبیبای خرگوش‌ها قرار داده شد. خرگوش‌ها در فواصل هفته‌های ۳، ۵، ۷، ۹ و ۱۱ کشته شدند. سپس نمونه‌ها خارج شده دکلسیفیه شده و به روش معمول H&E رنگ‌آمیزی شده، پس از آماده شدن لام با میکروسکوپ نوری مورد بررسی قرار گرفتند.

روش تهیه ماتریکس عاج دیمینرالیزه اتوژن

برای تهیه ADDM ابتدا حیوان‌ها با ترکیبی از کتامین (alfasan woerden-Holland) به ازای هر کیلو ۳۵ میلی‌گرم به صورت داخل عضلانی و زایلزین (alfasan Woerden-

از جمله این مواد می‌توان به ماتریکس عاج دکلسیفیه اتوژن (Autogenous Demineralized Dentin Matrix (ADDM) اشاره کرد که دارای خاصیت القای استخوان‌سازی بوده و بر اساس نظر Bessho (۱۹۹۰) دارای خاصیت کموتاکسی، میتوژنیک، استوژنیک بوده و دارای BMP (Bone morphogenic protein) و عوامل رشدی از قبیل عامل رشد پلاکتی، FGF (Fibroblast growth factor)، عامل رشد مشتق از پلاکت PDGF (Platlet derived growth factor) و عامل رشد اپیدرمال نیز می‌باشد (۴).

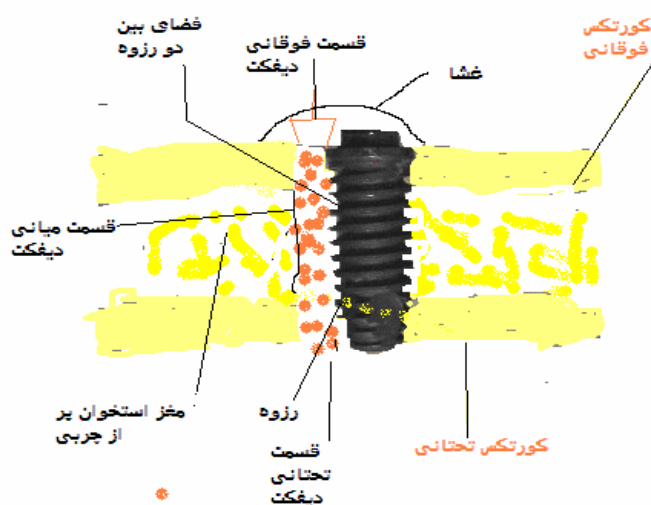
Pinholt در سال ۱۹۹۲ عاج دیمینرالیزه اتوژن را بر روی ریج آلوئول تعدادی حیوان پیوند کرده وی هیچ گونه القای استخوانی و استخوان جدیدی را مشاهده نکرد (۵).

Movin و همکاران در سال ۱۹۸۲ در مطالعه‌ای تاثیر عاج دیمینرالیزه را بر ترمیم دیفکت‌های داخل استخوانی بررسی کردند و نتیجه گرفتند که با توجه به وقت گیر بودن مراحل تهیه عاج دیمینرالیزه، این ماده کاندید مناسبی جهت ترمیم نقایص داخل استخوانی نیست (۶).

غشا به عنوان یک سد از تهاجم سلول غیراستخوانی به ناحیه ممانعت کرده و اجازه می‌دهد که سلول اختصاصی استخوان‌ساز در ناحیه تجمع پیدا کنند (۱). ترمیم نقایص استخوانی که در نتیجه عمل جراحی حاصل شده با رشد بافت همبند به محل دچار اختلال شده و این روند از تشکیل بافت جدید استخوانی جلوگیری می‌کند. در مطالعه حاضر در صورت عدم استفاده از غشا، تهاجم بافت همبند از اطراف ناحیه دیفکت می‌تواند بر روند ترمیم و نتایج مطالعه تاثیرگذار باشد بنابراین علت استفاده از غشا در این بررسی تسریع روند استخوان‌سازی بلکه تاثیر آن بر ممانعت از مهاجرت سلول‌های بافت همبند اطراف مد نظر بود. زیرا سرعت حرکت این سلول نسبت به سلول‌های استخوانی بسیار بیشتر بوده و سریع به ناحیه می‌رسند و وجود غشا می‌تواند مانع این امر شود.

استخوان تیبیبای خرگوش دارای یک لایه استخوان کورتیکال در سطح و مغز استخوان در قسمت مرکزی است که حاوی چربی بوده که تا حدی مشابه استخوان نوع ۴ در فک انسان می‌باشد. البته در انسان در قسمت مغز استخوان چربی وجود ندارد بلکه فضاهای مغز استخوان بسیار وسیع

استخوانی ایجاد شده قرار داده شدند. سپس ناحیه توسط یک قطعه غشاء (Biogide) از جنس کلاژن بوده و قابل جذب می‌باشد) به ابعاد ۶ در ۶ میلی‌متر پوشانده شد. در پای دیگر حیوان همین اعمال به همین ترتیب انجام شد با این تفاوت که در نقص ایجاد شده ماده پیوندی قرار داده نشده و تنها با غشاء پوشانده شد. تمامی خرگوش‌ها به ترتیب فوق تحت عمل جراحی قرار گرفتند اما پایی که در آن پیوند قرار داده می‌شد، به ترتیب عوض می‌شد. یعنی اگر در حیوان اولی پیوند در پای چپ قرار داده می‌شد در بعدی در پای راست گذاشته می‌شد.



شکل ۱- در این شکل استخوان تیبیای خرگوش رابطه دیفکت با ایمپلنت، محل قرارگیری گرفت و غشا و قسمت‌های فوقانی و تحتانی و مرکزی دیفکت و استخوان تیبیا خرگوش مشخص شده است.

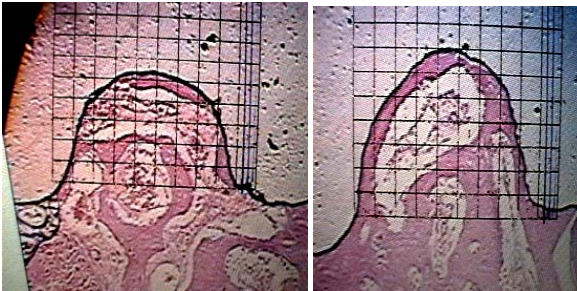
پس از سپری شدن زمان مورد نظر خرگوش‌ها به ترتیب در هفته‌های ۳، ۵، ۷، ۹ و ۱۱ کشته شدند. برای دیدن نمونه‌ها در زیر میکروسکوپ به تهیه برش‌های بسیار نازک نیاز بود. البته بردن استخوان به تنهایی پس از دمیترالیزه کردن در آزمایشگاه ممکن بود که وجود ایمپلنت‌ها مانع این کار می‌شد. به همین دلیل لازم بود که نمونه‌ها ابتدا به قطعات نازک تبدیل شوند. برای این منظور نمونه‌ها در اکریل سرما سخت قرار داده شدند. این اکریل در قالبی به شکل مکعب مستطیل ریخته شد. قالب‌ها در آب ۱۰ درجه قرار داده شده تا به آرامی پلیمریزه شوند. این مکعب‌های آکریلی در

(Holland) به ازای هر کیلوگرم ۵ میلی‌گرم به صورت داخل عضلانی (تزریق داخل عضله ران) بیهوش شدند. کتامین دارویی است که به بی‌حرکتی منجر می‌شود اما بی‌دردی آن برای انجام هر گونه جراحی بسیار کم است. به همین دلیل این دارو را همراه با داروی دیگری به نام زایلزین استفاده می‌کنند. ترکیب این دو به برقراری بی‌هوشی نسبتاً خوبی منجر می‌شود (۹). به منظور بی‌دردی کامل به میزان ۱/۸ c.c لیدوکائین همراه با اپی‌نفرین به نسبت ۱ در ۸۰۰۰۰ به صورت انفیلتراسیون در عمق وستیبول باکال تزریق شد، با استفاده از فورسپس یکی از دندان‌های سانترال بالا کشیده شد. سپس با استفاده از فایل، پالپ دندان از مسیر انتهایی ریشه خارج گردید. پس از شستشوی دندان‌ها با سرم فیزیولوژی دندانها در محلول اسید نیتریک ۵٪ قرار داده شدند. برای جلوگیری از بروز اشتباه شیشه‌ها کد گذاری شده و در یخچال در دمای ۲ درجه سانتیگراد نگهداری شدند (۱). پس از دکلسیفیکاسیون کامل، دندان‌ها از شیشه‌های محتوی اسید خارج شده به مدت نیم ساعت با آب مقطر شستشو داده شدند و با استفاده از تیغ بیستوری شماره ۱۱ به قطعات ۰/۵ میلی‌متری تقسیم شدند.

نمونه‌ها در شیشه‌های محتوی ۵ سی‌سی الکل ۷۰ درجه و ۰/۲ سی‌سی جنتامایسین قرار داده شده و در دمای ۲ درجه سانتیگراد تا زمان ایمپلنت شدن نگهداری شدند. پس از آماده شدن نمونه‌ها، خرگوش‌ها مجدداً با استفاده از مخلوط کتامین و زایلزین بیهوش شدند. پس از عریان شدن استخوان به تهیه حفره در استخوان اقدام گردید. دستگاه مورد استفاده جهت تهیه حفره موتور جراحی (ساخت شرکت Novac کشور سوئیس) و سرعت دستگاه روی ۱۰۰۰ دور در دقیقه تنظیم شده بود. پس از تعبیه حفره و قبل از قرار دادن ایمپلنت حفره دیگری در سمت پایین و یا دیستال حفره اول تعبیه شد. قطر این حفره ۶ میلی‌متر بوده هر دو کورتکس استخوان را دربر می‌گرفت. پس از آماده شدن حفرات، ایمپلنت گذاشته شد. در مرحله بعد نقایص استخوانی ایجاد شده با عاج دمیترالیزه اتوژن پر شدند. نحوه قرار دادن پیوند به این صورت بود که نمونه‌ها پس از خارج شدن از شیشه‌های مخصوص نگهداری، با تیغ بیستوری شماره ۱۱ به قطعات نیم میلی‌متری بریده شده در نقایص

سطح تراپکول‌های ساخته شده بین پیچ‌های ایمپلنت اندازه‌گیری شده و نسبت به سطح بین رزوه‌های ایمپلنت به درصد بیان شدند (جدول ۲، شکل ۱).

برای اندازه‌گیری سطح بین دو پیچ ایمپلنت نیز از تصویر بزرگ شده نمای هیستولوژیک استفاده شد. ابتدا یک صفحه شفاف که با استفاده از خط کشی به مربع‌های یک میلی‌متری تقسیم‌بندی شده بود، روی فضای بین دو پیچ روی سطح مانیتور انداخته شده و سطح بین پیچ‌ها با شمارش مربع‌ها تک تک اندازه‌گیری شده و مجموع آنها با هم جمع شدند. سپس سطح تراپکول‌های استخوانی موجود بین هر دو پیچ اندازه‌گیری شده و مجموع آنها با هم جمع شده و در انتها نسبت سطح تراپکول‌های استخوانی به سطح کل بین پیچ‌ها به صورت درصد بیان شد (شکل ۲).



شکل ۲- رنگ‌آمیزی H&A با بزرگنمایی ۱۰ برابر هیستومورفومتری با استفاده از صفحات شفاف شطرنجی

## یافته‌ها

### هیستولوژی

ایمپلنت بدون گرفت: در هفته سوم درون حفره بافت فیبروز دیده می‌شود استخوان‌سازی در داخل ضایعه مشاهده می‌شد به صورت تراپکول‌های بسیار نازکی هستند که تمام فضای ضایعه را پر کرده بودند. در قسمت مغز استخوان فقط بافت چربی دیده می‌شد. در هفته ۵ و ۷ به تدریج به ضخامت تراپکول‌ها اضافه شده و در مغز استخوان فعالیت استخوان‌سازی دیده نمی‌شد. در هفته نهم و یازدهم قسمت کورتیکال کاملاً توسط استخوان پر شده و در قسمت مغز استخوان فقط چربی دیده می‌شد (شکل ۳).

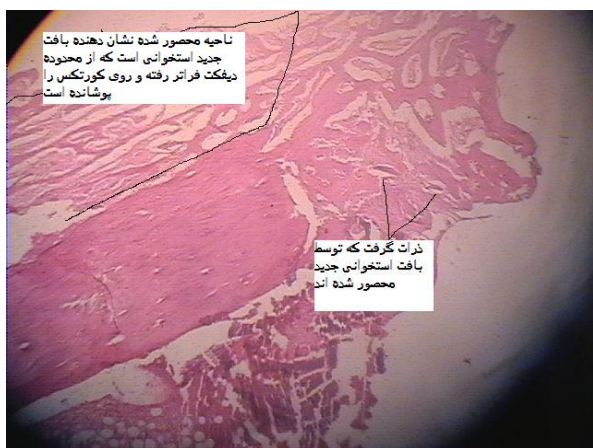
دستگاه برش Bron will موجود در مرکز تحقیقات دانشکده دندانپزشکی دانشگاه شاهد قرار داده شده و به قطعاتی به ضخامت نیم میلی‌متر بریده شدند. برش‌ها طوری طراحی شدند که ناحیه‌ای از استخوان که گرفت در آن قرار داده شده بود کاملاً سالم بماند و قسمت میانی ایمپلنت که در مجاورت گرفت قرار داشت به صورت یک قطعه نیم میلی‌متر بریده شد. نمونه‌ها در اسید نیتریک ۵٪ قرار داده شدند تا دمنرالیزه شده و ایمپلنت به راحتی از استخوان جدا شود. پس از خارج کردن ایمپلنت‌ها نمونه‌ها به آزمایشگاه فرستاده شدند.

### بررسی نمونه‌ها بوسیله هیستومورفومتری

برای این منظور از یک صفحه شطرنجی شفاف استفاده شد که به مربع‌های کوچک تقسیم شده بود. ابتدا لام در میکروسکوپ قرار داده می‌شد. سپس این تمپلیت بر روی صفحه مانیتور دستگاه ویدئو میکروسکوپ قرار داده شده، اندازه‌گیری‌های زیر انجام شدند.

طول تماس تراپکول‌های استخوانی با ایمپلنت اندازه‌گیری شده و نسبت به طول ایمپلنت به درصد بیان شد (جدول ۱، شکل ۱).

همان طور که در ابتدا ذکر شد ایمپلنت‌ها با استفاده از دستگاه برش به ضخامت‌های نیم میلی‌متری بریده شدند. با توجه به اینکه در حین بریدن مقادیری از ایمپلنت و بافت استخوانی تراشیده می‌شد. در مجموع از هر ایمپلنت سه برش نیم میلی‌متری تهیه شد. قطعه‌ای که مربوط به قسمت مرکزی بود انتخاب شده و پس از دکلسیفیه کردن ایمپلنت از استخوان جدا شده و از نمونه مورد نظر سه برش هیستولوژیک تهیه می‌شد. لام مورد نظر زیر میکروسکوپ قرار داده شده و تصویر با بزرگنمایی چند برابر به صفحه مانیتور منتقل شد. ابتدا طول ایمپلنت در سمتی که مجاور گرفت بود با استفاده از یک قطعه سیم قابل انعطاف اندازه‌گیری شد. سپس طول تماس تراپکول‌های استخوانی ساخته شده که چسبیده به ایمپلنت بودند نیز اندازه‌گیری شده و مجموع آنها با هم جمع شدند. سپس با بستن یک تناسب میزان تماس تراپکول‌ها به طول ایمپلنت به صورت درصد بیان شدند.



شکل ۴ - بزرگنمایی ۱۰ برابر با رنگ آمیزی H&E نمونه حاوی گرفت ۳ هفته

در هفته پنجم در قسمت فوقانی و تحتانی دیفکت ضخامت تراپکول‌های استخوانی در نمونه حاوی گرفت افزایش بیشتری یافته و تماس با ایمپلنت به صورت نقطه و سطح می‌باشد. ذرات پیوند توسط بافت استخوان محصور شده و در حال تحلیل رفتن هستند. در قسمت میانی ضایعه نیز به طور پراکنده تراپکول‌های استخوانی دیده می‌شوند که با ایمپلنت تماس نقطه‌ای دارند. اما قسمت اعظم فضای مغز استخوان توسط بافت چربی پر شده است. در نمونه فاقد پیوند در مغز استخوان فقط چربی دیده می‌شود.

هفته هفتم با پیوند: قسمت فوقانی ضایعه که مجاور کورتکس استخوان تیپیا است کاملاً توسط استخوان کورتیکال یکدست پر شده است. از تعداد استئوبلاست‌ها به میزان قابل توجهی کاسته شده و بیشتر استئوسیت‌ها دیده می‌شوند. در قسمتی از فضای مغز استخوان که مجاور ایمپلنت می‌باشد تراپکول‌های استخوانی دیده می‌شوند.

هفته نهم مشابه هفته هفتم است در هفته یازدهم دیفکت کاملاً توسط استخوان کورتیکال که در بعضی نواحی دارای فضاهای عروقی می‌باشد پر شده است. قسمت تحتانی استخوان کورتیکال دارای تراکم بیشتر و قسمت‌های سطحی آن تراکم کمتری دارند که در واقع قسمت‌های سطحی استخوان جدیدی است که منجر به افزایش ضخامت لایه کورتیکال شده است. نمونه فاقد پیوند ضخامت استخوان کورتیکال افزایش نیافته است. در قسمت مغز استخوان



شکل ۳ - بزرگنمایی ۴۰ برابر رنگ آمیزی H&E مغز استخوان در نمونه ۱۱ هفته بدون گرفت

۱- برجستگی مربوط به فضای ما بین دو رزوه ایمپلنت در قسمت مرکزی دیفکت

۲- بافت چربی که قسمت مرکزی دیفکت را پر کرده است.

ایمپلنت با گرفت هفته سوم: استخوان‌سازی در داخل دیفکت را در دو قسمت می‌توان مورد توجه قرار داد. قسمت فوقانی و تحتانی ضایعه که در داخل استخوان کورتیکال می‌باشد و قسمت میانی ضایعه که در داخل بافت چربی قرار دارد. تراپکول‌های استخوانی که ذرات پیوند را در برگرفته‌اند به وضوح دیده می‌شوند و واکنش اماسی مشاهده نمی‌شود. در حاشیه، تراپکول‌ها توسط استئوبلاست‌ها مفروش شده است که خود حاکی از بالا بودن فعالیت استخوان‌سازی می‌باشد. موضوعی که در این جا باید به آن اشاره کرد وجود مقادیر زیادی از تراپکول‌های استخوانی می‌باشد که بالاتر از سطح دیفکت و روی استخوان کورتیکال مجاور ضایعه را پوشانده است (شکل ۴).

در مجاورت پیچ‌های ایمپلنت تراپکول‌های استخوانی دیده می‌شوند و فرورفتگی‌های بین آنها نیز توسط تراپکول‌های نازک پر شده‌اند. تماس تراپکول‌ها با ایمپلنت به صورت نقطه و سطح می‌باشد. در قسمت میانی دیفکت که در مغز استخوان و مجاور بافت چربی قرار گرفته است فعالیت استخوان‌سازی ضعیفی دیده می‌شود و اجزا گرفت توسط بافت همبند محصور شده‌اند. در مجاورت پیچ‌ها و فرورفتگی‌های میان آنها نیز تراپکول‌های استخوانی به مقدار بسیار کم دیده می‌شود.

جدول ۱- مقایسه نسبت طول تماس ایمپلنت با استخوان کورتیکال (و استخوان ساخته شده در بافت چربی به طول ایمپلنت در دو گروه با گرفت و بدون گرفت

گروه	استخوان کورتیکال		مغز استخوان (چربی)	
	بدون گرفت	با گرفت	بدون گرفت	با گرفت (چربی)
هفته سوم	۱۶٪	۲۲٪	۰٪	۱۰٪
هفته پنجم	۲۰٪	۲۸٪	۰.۵	۱۵٪
هفته هفتم	۲۷٪	۳۷٪	۰٪	۲۲٪
هفته نهم	۳۵٪	۴۵٪	۰٪	۲۵٪
هفته یازدهم	۵۰٪	۶۰٪	۰٪	۲۵٪

منظور از طول تماس ایمپلنت با استخوان کورتیکال جمع طول تماس تراکول‌های استخوانی با سطح ایمپلنت است. منظور از طول ایمپلنت طول قسمتی از ایمپلنت است که مجاور استخوان کورتیکال می‌باشد.

۲- قسمت فوقانی دیفکت که با استخوان کورتیکال پر شده است.

۳- قسمت مرکزی دیفکت که حاوی بافت چربی می‌باشد اما در مجاورت ایمپلنت استخوان ساخته شده است (منظور از قسمت مرکزی دیفکت ناحیه بین دو کورتکس می‌باشد).

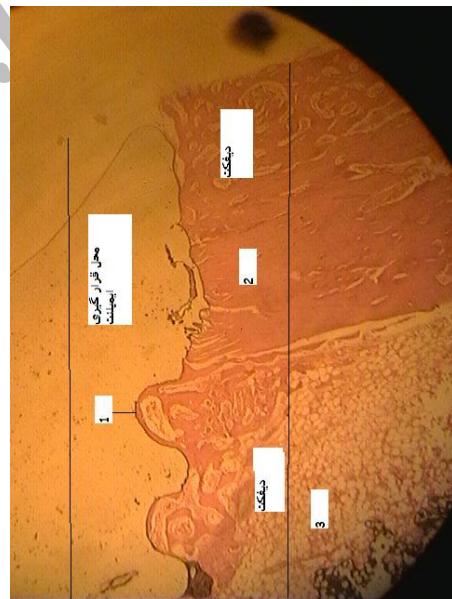
مجاور ایمپلنت فقط بافت چربی دیده می‌شود (شکل ۳). در قسمت مغز استخوان نمونه حاوی پیوند (هفته ۱۱) مجاور پیچ‌ها و فضای بین آنها تراکول‌های استخوانی مشاهده می‌شوند که با ایمپلنت تماس دارند (شکل ۵).

جدول ۲ - مقایسه سطح تراکول‌های ما بین پیچ‌ها به کل فضای موجود بین پیچ‌ها در دو گروه

گروه	فضای موجود بین پیچ‌ها	
	بدون گرفت	با گرفت
هفته سوم	۱۴٪	۲۸٪
هفته پنجم	۲۰٪	۳۵٪
هفته هفتم	۲۸٪	۴۲٪
هفته نهم	۲۸٪	۴۵٪
هفته یازدهم	۲۸٪	۴۵٪

## بحث

امروز محققین بسیاری بر روی انواع مختلف مواد که موجب تسریع استخوان‌سازی می‌شوند مطالعه می‌کنند. گروهی از این مواد خاصیت القا استخوان‌سازی (استواینداکتیو) داشته و گروهی به عنوان بستری برای استخوان‌سازی (استوکنداکتیو) مورد استفاده قرار می‌گیرند. از گروه اول می‌توان به استخوان اسفنجی ایلیاک و عوامل رشد و از گروه دوم به موادی مانند هیدروکسی آپاتیت اشاره کرد. یکی از این مواد عاج دیمیرالیزه اتوژن می‌باشد که هم دارای



شکل ۵- بزرگنمایی ۱۰ برابر رنگ‌آمیزی H&E نمونه حاوی گرفت هفته ۱۱

سمت چپ: محل قرارگیری ایمپلنت که به منظور تهیه لام از جای خود خارج شده است.

سمت راست: دیفکت و محدوده دیفکت که با استخوان جدید پر شده است.

۱- فضای بین دو روزه ایمپلنت در قسمت مرکزی دیفکت، بافت استخوانی جایگزین بافت چربی شده است.

داخل بافت عضلانی حیوانات آزمایشگاهی غضروف و استخوان ساخته شده بود. این پدیده ناشی از وجود مواد القا کننده استخوان (Osteoinductive) در ماتریکس عاج می باشد (۱۲،۱۳). ساخت استخوان در مغز استخوان حاوی چربی می تواند از کموتاکسی سلول های مزانشیمی به ناحیه ناشی باشد. بر اساس مطالعات Bessho (۱۹۹۰) و Goncalves ماتریکس عاج دارای خواص کموتاکسی، میوژنیک و استئوژنیک می باشد (۴،۱۴). کاربرد ماتریکس عاج به کموتاکسی سلول های مزانشیمی به ناحیه منجر شده و تبدیل این سلول ها به استوبلاست منجر به فعالیت استخوان سازی می گردد (۱).

عامل دیگری که می تواند در استخوان سازی در بافت چربی مغز استخوان دخالت داشته باشد خود سلول های چربی هستند. در مطالعات مختلف تبدیل سلول های مزانشیمی و سلول های پایه (Stem cell) به سلول های مختلف نشان داده شده اند. Buranasinsup در سال ۲۰۰۶ در تحقیقات خود نشان داد که سلول های پیش ساز که در پوست وجود دارند می توانند به سلول های استخوانی تبدیل شوند (۱۵). در بررسی که Traktuev در سال ۲۰۰۶ بر روی سلول های چربی انجام داد به این نتیجه رسید که این سلول ها پتانسیل تبدیل شدن به سایر سلول ها از قبیل سلول های استخوانی، غضروفی و عضلانی را دارند (۱۶). Zhou در سال ۲۰۰۶ در مطالعات خود تبدیل شدن سلول های پایه چربی به سلول های استخوانی و معدنی شدن آنها را نشان داد (۱۷). در مطالعه ما نیز ماتریکس عاج دیمینرالیزه با داشتن عوامل رشد BMP, TGF-beta, PDGF, EGF به عنوان یک عامل محرک بر روی سلول های پایه بافت چربی اثر کرده که منجر به تمایز آنها به سلول های استئوبلاست و استخوان سازی شده است (۱).

یکی از اهداف مطالعه حاضر مقایسه میزان تماس استخوان جدید ساخته شده با ایمپلنت (BIC (bone implant contact) بود. میزان این تماس در دو ناحیه یعنی استخوان کورتیکال و ناحیه مغز استخوان مورد بررسی قرار گرفته است و همان طور که در جدول ۱ مشخص است میزان تماس ایمپلنت با استخوان کورتیکال در هر دو گروه تجربی و شاهد تقریباً یکسان بوده و تفاوت چندانی به چشم

هیدروکسی آپاتیت بوده هم دارای عوامل رشد از قبیل BMP و TGF-beta می باشد (۴).

خاصیت القای استخوان (Osteoinduction) به معنی فرآیند تمایز سلول های مزانشیمی به سلول های پیش ساز (Osteoprogenitor) می باشد که به تشکیل بافت استخوانی جدید منجر می شود.

در سال ۱۹۹۵، Sumner و همکاران گزارش کردند که طی ۴ هفته حیوان هایی که توسط TGF-beta درمان شده بودند نسبت به گروه کنترل ۳ برابر استخوان سازی بیشتری را نشان می دادند (۱۰).

در این بررسی در روز ۲۱ در نمونه های شاهد و تجربی در قسمت هایی از حفره که مجاور استخوان کورتیکال بودند تراپکول های استخوانی مشاهده شدند. اما در گروه تجربی فعالیت استخوان سازی فراتر رفته و به سطح استخوان گسترش یافته بود که منجر به افزایش ضخامت استخوان منجر شده بود. این موضوع با مشاهده نمونه با چشم نیز قابل تشخیص بود. این افزایش بافت استخوانی در حضور ADDM بود که می تواند ناشی از اثرات القایی آن بر روی بافت های استخوانی مجاور باشد (۱). برای تهیه ADDM از روشی مشابه محققین قبلی (Gomes (۲۰۰۲)، Carvalho (۲۰۰۴) و Butler (۱۹۹۷) استفاده شد (۱۱،۱۷). با این تفاوت که در مطالعه حاضر قطعات عاج با استفاده از تیغ به قطعات کوچک ۰/۵ میلی متری تقسیم شدند اما در روش های قبلی با استفاده از میکروتوم، عاج به ورقه های نازک بریده می شد. در هر حال اثرات القای استخوان ADDM حفظ شده بود.

در نمونه هفته هفتم در نمونه تجربی و شاهد در قسمت کورتیکال حفره ایجاد شده به طور کامل با استخوان پر شده بود. ضخامت استخوان کورتیکال در گروه تجربی بیشتر از گروه شاهد بود که ناشی از اثر القا استخوان سازی ADDM می باشد. در قسمت مرکزی حفره ایجاد شده در گروه شاهد فقط بافت چربی دیده می شد. در گروه تجربی تراپکول های استخوانی مشاهده می شوند که بر روی پیچ ها و فضای بین پیچ های ایمپلنت ساخته شده اند و تماس آنها به صورت نقطه و خط می باشد. محرک استخوان سازی در داخل بافت چربی از اثر القایی ADDM بر روی سلول های اطراف آن ناشی می باشد. در تعدادی از مطالعات پس از کاشتن ADDM در

سلول‌های استخوان‌ساز منجر می‌شود. این اثر قبلاً توسط Gomes و Goncalves (۱۹۹۷) و (۲۰۰۲) گزارش شده بود (۱، ۱۴). ADDM به علت اثر کموتاکسی منجر به جذب سلول‌های پیش‌ساز و استوبلاست‌ها به ناحیه شده و استخوان‌سازی را تقویت می‌کند. به نظر Gomes (۲۰۰۲) این اثر به علت آزاد شدن BMP و سایر عوامل رشد از ماتریکس عاج است که به بروز اثرات هدایت استخوان‌سازی (استوکانداکتیو) و اثر القای استخوان‌سازی (استواینداکتیو) منجر می‌شوند (۱). اهمیت این اثر بیشتر در بافت چربی مغز استخوان دیده می‌شود که ما شاهد ساخته شده استخوان در این ناحیه می‌باشیم که در نهایت به افزایش سطح تماس بین استخوان و ایمپلنت در استخوان تی‌بیای خرگوش منجر شده است.

### نتیجه‌گیری

با توجه به ارزیابی هیستومورفومتریک می‌توان گفت که عاج دمینرالیزه به دلیل خاصیت القای استخوانی به افزایش ساخت استخوان در مغز استخوان در اطراف ایمپلنت منجر شده، سطح تماس ایمپلنت و استخوان زیاد شده و در نهایت بقای ایمپلنت کاشته شده در استخوان تی‌بیای خرگوش افزایش یافته است.

نمی‌خورد اما در ناحیه مغز استخوان که توسط بافت چربی پر شده است تفاوت چشمگیری وجود دارد که این خود به دلیل تفاوت در میزان استخوان ساخته شده در این ناحیه است. در هر دو گروه تجربی و شاهد اثری از سلول‌های التهابی به چشم نمی‌خورد و عاج مورد استفاده توسط بافت میزبان پذیرفته شده است (۱). مشابه مطالعه انجام شده توسط Gomes (۲۰۰۲) این ماده (ADDM) کاملاً توسط بدن میزبان پذیرفته شده است (۱). مطالعات Goncalves (۱۹۹۷) و Catanzaro-Guimaraes (۱۹۶۸) نیز این موضوع را تایید می‌کنند (۱۴، ۱۸). طبق نظر Bang (۱۹۷۲) پذیرش این ماده می‌تواند به علت پایین بودن انتی‌ژنیسیته آن باشد (۱۲). هدف دیگری که در این مطالعه دنبال می‌شد بررسی تاثیر ADDM در میزان استخوان‌سازی بود. میزان استخوان جدید ساخته شده در گروه تجربی بیشتر بود و این افزایش بیشتر مربوط به ناحیه مغز استخوان می‌باشد. در ناحیه کورتکس میزان استخوان ساخته در هر دو گروه تقریباً یکسان بود، تفاوت به استخوان ساخته شده در بافت چربی مرتبط است. در گروه شاهد در ناحیه مغز استخوان هیچ استخوان جدیدی ساخته نشده بود در حالی که در گروه تجربی که در آن از ADDM استفاده شده بود در بافت چربی و در فواصل بین پیچ‌ها استخوان‌سازی مشاهده شد که این می‌تواند از تاثیر ADDM باشد که به تحریک

### References

- Gomes MF, Dos Anjos MJ, M, Nogueira Tde O, Catanzaro Guimaras SA: Autogenous Demineralized Dentin Matrix for tissue Engineering Applications: Radiographic and Histomorphometric Studies. *Int J Oral Maxillofac Implants* 2002;17:488-497.
- Hosny MH, Sharwy M: Osteoinduction in rhesus monkeys using demineralized bone powder allografts. *J Oral Maxillofac Surg* 1985;43:837-844.
- Reddi AH: Initiation of fracture repair by bone morphogenic protein. *Clinic Orthop* 1998;355:66-72.
- Bessho K, Tagawa T, Murata M: Purification of rabbit bone morphogenic protein derived from bone, dentin and wound tissue after tooth extraction. *J Oral Maxillofac Surg* 1990;48:162-169.
- Pinholt EM, Haanaes HR, Roerik M, Donath K, Bang G: Alveolar ridge augmentation by osteoinductive materials in goats (abstract). *Scand J Dent Res* 1992;100:361-365.
- Movin S, Borring Moller G: Regeneration of infrabony periodontal defects in humans after implantation of allogenic demineralized dentin. *J Clin Periodontol* 1982;9:141-147.



7. Carvalho VA, To sello Dde O, Salgado MA, Gomes MF: Histomorphometric analysis of homogenous demineralized dentin matrix. *Int J Oral Maxillofac Implant* 2004;19:679-686.
8. Gomes MF, Silva MJS, Nogueira TO, Catanzaro-Guimaras SA: Histologic evaluation of the osteoinductive property of outogenous demineralized dentin matrix on surgical bone defect in rabbit skulls using human amniotic membrane for guided bone regeneration. *Int J Oral Maxillofac Implants* 2001;16:563-557.
9. Seymour C, Gleed R: *Manual of Small Animal Anesthesia and Analgesia*. First Ed. Cheltenham. British Small Animal Veterinary Association 1999;Chap28:299-300.
10. Sumner DR, Turner, Purchio AF, Gombotz WR, Urban RM, Galante JO: Enhancement of bone ingrowth by transforming growth factor-beta. *J Bone Joint Surg Am* 1995;77:1135-1147.
11. Butler WT, Mikulski A, Urist MR: Noncollagenous proteins of rat dentin matrix possessing bone morphogenic activity. *J Dent Res* 1977;56:228-232.
12. Bang G: Induction of heterotopic bone formation by demineralized dentin in guinea pig: Antigenicity of dentin matrix. *J Oral Surge Oral Pathol Oral Med* 1972;1:172-185.
13. Kawai T, Urist MR: Bovine tooth derived bone morphogenic protein. *J Dent Res* 1989;68:1069-1074.
14. Goncalves EAL: Study of the process of the bone repair in surgical defects implanted with Demineralized Autogenous Dentin Matrix in Radius of dogs [thesis]. Bauru:University of SaoPaulo.
15. Buranasinsup S, Sila-Asna M, Bunyaratvei N: In vitro osteogenesis from human skin-derived precursor cells: *Dev Growth Differ* 2006;48:263-269.
16. Traktuev DO, Parfenova EV, Tkachuk VA, March KL: Adipose stromal cell-plastic type of cells with high therapeutic potential. *Tsitologiya* 2006;48:83-94(Article in Russian).
17. Zhou YS, Liu YS, Tan JG: Is 1,25-dihydroxyvitamin D3 an ideal substitute for dexamethazon for inducing osteogenic differentiation of human adipose tissue-derived stromal cells in vitro? *Chin Med J* 2006; 5: 119(15):1278-1286.
18. Catanzaro-Guimaraes SA, Catanzaro-Guimaraes B, Garcia RB, Alle N: Osteogenic potential of autogenic demineralized dentin implanted in bony defects in dog. *Int J Oral Maxillofac Surg* 1986;15:160-169.