Archive of SID

مقاله پژوهشی

مجله دانشگاه علوم پزشکی رفسنجان

دوره ششم، شماره اول، بهار ۱۳۸۶، ۶۰-۵۳

اثر ماده بنیادی دمینرالیزه استخوان بر القاء و هدایت استخوان سازی حفره آلوئولی در موش‌های صحرایی دیابتیک نوع I

شهریار احمد پورقاسم‌آباد[۱]، محمدمحسن تقوی[۲]، دکتر حسین حقیر[۳]

دریافت مقاله: ۸٤/۷/۲۵ ارسال مقاله به نویسنده جهت اصلاح: ۸٤/۱۱/۱۲ دریافت اصلاحیه از نویسنده: ۸۵/۸/۲۱ پذیرش مقاله: ۸۵/۹/۲۳

چکیده

زمینه و هدف: در ارتباط با کاربرد ماده بنیادی دمینرالیزه استخوان (DBM=Demineralized Bone Matrix)، در حضور یک بیماری مثل دیابت نوع I مطالعات بسیار ناچیزی وجود دارد. این تحقیق به منظور تعیین اثرات هدایت و القاء استخوان‌سازی DBM در ترمیم استخوان آلوئولی موش‌های صحرایی دیابتیک نوع I تحت درمان با انسولین انجام گرفت.

مواد و روش‌ها: این مطالعه تجربی بر روی ۵۰ سر موش صحرایی بالغ نر با وزن ۲۵۰-۲۰۰ گرم و سن هشت هفته انجام شد. موش‌های صحرایی در چهار گروه بدین ترتیب تقسیم شدند: گروه اول شامل ۸ موش صحرایی (شاهد) و سه گروه دیگر ۱۴ موش صحرایی (دیابتیک در هر گروه انتخاب گردیدند. دیابت توسط آلوکسان ایجاد شد. در گروه‌های دیابتیک فقط گروه چهارم روزانه یک واحد انسولین NPH دریافت می‌نمودند. ۱۰ روز بعد دندان راست پیشین فوقانی کشیده شد و در گروه‌های سوم و چهارم با DBM حفره دندانی را پر نمودیم. در پایان هفته‌های اول و دوم نیمی از موش‌های صحرایی در هر گروه کشته شده و سر آن‌ها را جدا نمودیم. نمونه‌ها آماده‌سازی و با روش هماتوکسیلین-ائوزین(H&E) رنگ‌آمیزی گردیدند. تغییرات بافتی اطراف ذرات DBM را که نشان دهندهٔ فعالیت استخوان‌سازی یا برعکس مغایر با فعالیت استخوان‌سازی می‌باشد، مورد مطالعه قرار گرفت.

یافته‌ها: در گروه چهارم در پایان هفته اول، فعالیت استئوبلاستیک و تشکیل تیغه‌های استخوانی و الیاف کلاژن (۵ مورد از ۷ مورد) و در پایان هفته دوم استخوان‌سازی با تشکیل تیغه‌های بیشتر و ضخیم‌تر در مجاورت DBM مشاهده شد. در گروه سوم در پایان هفته اول در اطراف DBM اثر القاء و هدایت استخوان‌سازی در بعضی نواحی قابل مشاهده بود (۳ مورد از ۷ مورد). ضمناً تخریب ماده بنیادی استخوان توسط فعالیت کلاستیک قابل رؤیت بود. در پایان هفته دوم استخوان‌سازی به صورت پراکنده مشاهده شد. در گروه دوم در پایان هفته اول هماتوم و التهاب، نمای غالب بود و در پایان هفته دوم استخوان‌سازی بسیار ضعیف مشاهده شد. یافته‌های بافتی در گروه کنترل در پایان هفته اول، استخوان‌سازی در اطراف لیگامان پریودنتال (PDL) و در هفته دوم استخوان‌سازی با تشکیل تیغه‌های استخوانی بود.

نتیجه‌گیری: نتایج این مطالعه نشان می‌دهد که DBM در گروه موش صحرایی با دیابت کنترل شده 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 دیابتیک دارای روند بهتری بود و بنابراین DBM یک ماده مناسب برای پیوند است.

واژه‌های کلیدی: دیابت نوع I، ماده بنیادی دمینرالیزه استخوان، حفره دندانی، موش صحرایی

۱- دانشجوی دکترا گروه آموزشی علوم تشریحی، دانشگاه علوم پزشکی مشهد

۲- (نویسنده مسؤول) مربی و عضو هیأت علمی گروه آموزشی علوم تشریحی، دانشگاه علوم پزشکی رفسنجان

تلفن: ۸۴۳۸۴۳۱ -۰۵۱۱، فاکس: ۸۵۹۱۹۲۲-۰۵۱۱، پست الکترونیکی: taghavi164 @ yahoo.com

۳- استادیار گروه آموزشی علوم تشریحی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی مشهد

www.SID.ir

Archive of SID

مقدمه

دیابت شیرین نوع I شامل گروهی از بیماری‌های متابولیکی است که با افزایش قندخون و اختلال در متابولیسم کربوهیدرات، چربی و پروتئین همراه است[۱]. تحقیقات نشان می‌دهد که ترمیم و تشکیل استخوان در این بیماری کاهش می‌یابد. افراد دیابتی دارای توده استخوانی کمتری نسبت به افراد سالم می‌باشند. به طوری که محتوای معدنی بافت استخوانی در آن‌ها کمتر بوده و در مقایسه با افراد سالم بافت استخوانی در آن‌ها نازک‌تر است [۳-۲] و حدود ۱۸ تا ۵۴ درصد افراد دیابتی دچار عارضه استئوپنی می‌گردند [۴]. مهم‌ترین عامل در ایجاد این عارضه افزایش باز جذب استخوان نسبت به تشکیل آن است. مدارکی وجود دارد که نشان می‌دهد استئوپنی در نتیجه کنترل ضعیف حالت‌های غیرطبیعی متابولیکی دیابت ایجاد می‌گردد و درجه کاهش استخوان مرتبط با میزان قند در ادرار، غلظت گلوکز خون ناشتا و غلظت هموگلوبین گلیکوزیله شده می‌باشد [۴-۳].

یکی از ماکرومولکول‌های ساختمانی مهم در استخوان پروتئوگلیکان‌ها است. مشخص گردیده است که در افراد دیابتی این ماکرومولکول‌ها دچار تغییراتی از جمله کاهش وزن مولکولی و کوتاه شدن زنجیره‌های طرفی می‌گردند [۶-۵]. در افراد دیابتی میزان ترشح ادراری کلسیم و منیزیم افزایش یافته و چون غلظت کلسیم پلاسما بایستی در حد نرمال حفظ گردد، در نتیجه کلسیم استخوان برداشت می‌شود. هم‌چنین تعداد و فعالیت استئوبلاست‌ها که به عنوان سلول‌های سازنده استخوان شناخته می‌شوند در افراد دیابتی کاهش می‌یابد که نتیجه آن کاهش تشکیل استخوان و ناکارآمدی کلسیفیکاسیون استخوان است و در مقابل افزایش نسبی فعالیت استئوکلاست‌ها در این بیماران دیده می‌شود که به دنبال آن بازجذب استخوان از تشکیل آن پیشی می‌گیرد [۴،۷].

با توجه به افزایش روزافزون تروما و آسیب‌های استخوانی و محدود بودن روش‌های قدیمی و رایج ترمیم و بازسازی استخوان، بایستی در این باره روش‌های جدید مورد ارزیابی قرار گیرند [۸]. یکی از این روش‌ها استفاده از ماتریکس دمینرالیزه استخوان به عنوان یک ماده پیوندی در محل نقایص استخوانی می‌باشد [۱۲-۹]. DBM یک ترکیب از پروتئین‌های مختلف از جمله پروتئین‌های مورفوژنیک استخوان (BMP= Bone morphogenic protein) است [۱۴-۱۳]. یکی از این پروتئین‌های مورفوژنیک استخوان موجود در DBM، استئوژنیک پروتئین۱(Osteogenic protein-1) نام دارد که باعث تحریک تکثیر استئوبلاست‌ها می‌گردد و خاصیت القا و هدایت استخوان‌سازی یعنی استئواینداکتیو و استئوکانداکتیو دارد [۱۶-۱۵، ۸]. هم چنین DBM تمایز سلول‌های مزانشیمی به استئوبلاست‌ها را تحریک می‌کند [۱۸-۱۷]. ساختمان و ثبات شبکه کلاژن موجود در DBM نه تنها یک داربست برای تکثیر و تمایز سلول‌های اجدادی استخوان ایجاد می‌کند، بلکه میزان آزاد شدن فاکتورهای رشد استئواینداکتیو را کنترل می‌کند [۲۰-۱۹]. تاکنون کوشش‌های زیادی در رابطه با برطرف نمودن مشکلات استخوانی افراد دیابتیک صورت گرفته است. Weiss و همکارانش در سال ۱۹۸۱ نشان دادند که کاشت تکه‌های DBM به صورت زیرپوستی در موش‌های دیابتی شده توسط استرپتوزوتوسین (STZ)، تشکیل غضروف و استخوان را به ترتیب ۷ تا ۱۴ روز بعد از کاشت DBM القاء می‌کند [۵]. Landesman و همکارش (۱۹۸۵) نشان دادند که ماتریکس استخوانی مشتق شده از موش‌های دیابتی خاصیت القایی بهتری جهت استخوان‌سازی داخل غضروفی نسبت به موش‌های گروه کنترل دارد [۲۱].

Zhang و همکارانش (۱۹۹۲) به بررسی اثرات درمان با انسولین بر روی استخوان غیر نرمال و متابولیسم مواد معدنی در موش‌های صحرایی دیابتی شده با STZ پرداختند. قبل از آن مشخص شده بود که تجویز انسولین به موش‌های صحرایی دیابتی باعث جلوگیری از تغییرات بافت استخوانی می‌گردد. Zhang در پی یافتن این موضوع بود که آیا انسولین از طریق اثر مستقیم روی بافت اسکلتی یا تصحیح بی‌نظمی متابولیکی موجود در افراد دیابتی باعث برطرف کردن مشکلات استخوانی آن‌ها می‌گردد [۷].

www.SID.ir

Archive of SID

با توجه به مشکلات استخوانی افراد دیابتی که در بالا به آن‌ها اشاره شد، ترمیم استخوان آلوئولار و حفظ زیبایی فرد دیابتیک در هنگام کشیدن دندان از جمله مشکلات استخوانی دیگری است که این افراد با آن درگیر می‌باشند. لذا با توجه به استفاده کلینیکال DBM به عنوان یکی از مواد پیوندی در جراحی‌های پریودنتال و بازسازی بافت استخوانی، عفونت، تروما و ترمیم نقایص کرانیال [۲۴-۲۲] در افراد سالم، در این مطالعه بر آن شدیم که بدانیم آیا می‌توان از DBM به عنوان یک ماده پیوندی در ترمیم استخوان آلوئولار موش‌های صحرایی دیابتیک بهره جست و استفاده از DBM به همراه انسولین چه نتایجی را بجا خواهد گذاشت.

مواد و روش‌ها

در این مطالعه تجربی ۴ گروه موش صحرایی نر بالغ نژاد Albino، ،هشت هفته‌ای به وزن ۲۵۰-۲۰۰ گرم انتخاب شدند. گروه ۱ کنترل و گروه‌های دوم، سوم و چهارم دیابتیک بودند.

شیوه ایجاد دیابت در گروه‌های دیابتیک: یک ویال آلوکسان مونوهیدرات (Sigma) را با سالین بافر رقیق نمودیم و به مقدار mg/kg ۵۲ از طریق وریدهای دمی به وسیله سرنگ انسولین و بلافاصله بعد از آماده‌سازی محلول سریعاً به موش‌های صحرایی تزریق شد [۲۵]. پنج روز پس از تزریق، از موش‌های صحرایی گروه ۲ و ۳ و ۴ خونگیری از طریق سینوس وریدی رترواوربیت با استفاده از میکروپیپت به عمل آمد. نتایج قند خون از ۷ میلی‌مول طبیعی قبل از تزریق به ۱۳ میلی‌مول (mg/dl ۲۵۰) افزایش نشان داد. در جریان ایجاد دیابت ۵ موش صحرایی بعد از تزریق از بین رفتند و ۱۵ موش صحرایی نیز قند خون زیر ۲۰۰ داشتند که از مطالعه خارج شدند. در جریان درمان، قند خون حیوانات در حدود ۷ میلی‌مول تنظیم شد. موش‌های صحرایی گروه ۴ روزانه یک واحد انسولین NPH دریافت می‌نمودند [۲۶]. بنابراین از ۷۰ موش صحرایی انتخاب شده ۲۰ موش صحرایی از مطالعه خارج شدند از آن جا که گروه ۱ شامل موش‌های صحرایی سالم بودند و جهت مطالعه سیر طبیعی استخوان‌سازی بعد از کشیدن دندان در نظر گرفته شدند تعداد آن‌ها ۸ سر انتخاب شد و مابقی موش‌های صحرایی تحت تزریق آلوکسان دیابتی شده و به سه گروه ۱۴ تایی تقسیم گردیدند و در پایان هفته‌های اول و دوم هر بار ۷ موش صحرایی در گروه‌های آزمایش و ۴ موش صحرایی در گروه کنترل مورد مطالعه قرار گرفتند. به منظور استخراج DBM از روش Kim استفاده شد. در این روش بعد از جدا و پاک کردن استخوان‌های ران و درشت نی ۲۰ موش صحرایی دیگر و استفاده از موادی مثل اتانل مطلق، اتیل اتر و اسید کلریدریک، قرار دادن در اتو کلاو در چند مرحله و کوبیدن و پودر نمودن استخوان‌ها، DBM استخراج گردید [۲۷].

ده روز بعداز القاء دیابت و پس از بی‌هوش نمودن حیوانات با تزریق کتامین و کلروپرومازین اقدام به کشیدن دندان راست فوقانی نمودیم. پس از کنترل خونریزی، حفره دندانی را در گروه‌های ۳ و ۴ با DBM آغشته به سالین پر نمودیم و محل را با استفاده از نخ بخیه دوختیم. در پایان عمل ۲ میلی‌مول آنتی‌بیوتیک از نوع Pentabioticveternario (Sigma) به عضله پشتی تزریق نمودیم [۲۵]. پس از کنترل خونریزی و تنفس، حیوانات در یک قفس نگهداری شدند و با استفاده از آب و پلیت آسیاب شده مورد تغذیه قرار گرفتند. موش‌های صحرایی گروه ۴، انسولین NPH را به مقدار یک واحد در روز دریافت می‌کردند.

در پایان هر هفته ۷ موش صحرایی از گروه‌های آزمایش و ۴ موش صحرایی از گروه کنترل به صورت تصادفی جدا شده و پس از بی‌هوش کردن، سر حیوانات را از بدن جدا نمودیم. سرها را در فرمالین ۱۰ درصد قرار دادیم. پس از پاک کردن، مراحل کلسیم زدایی با استفاده از اسید فرمیک و اسید کلریدریک به مدت یک هفته انجام شد و در نهایت مقاطع بافتی ۵ میکرونی تهیه گردید و با هماتوکسیلین و ائوزین رنگ‌آمیزی شدند. مقاطع رنگ‌آمیزی شده به طور جداگانه توسط هر سه مجری طرح و مشورت با دو بافت‌شناس و پاتولوژیست جهت ارزیابی تغییرات بافتی که نشان دهندهٔ فعالیت استخوان‌سازی مثل تشکیل تیغه‌های استخوانی یا مغایر با فعالیت نرمال استخوان‌سازی مثل التهاب باشد، زیر میکروسکوپ نوری مورد مطالعه قرار گرفت و هر فرد به طور

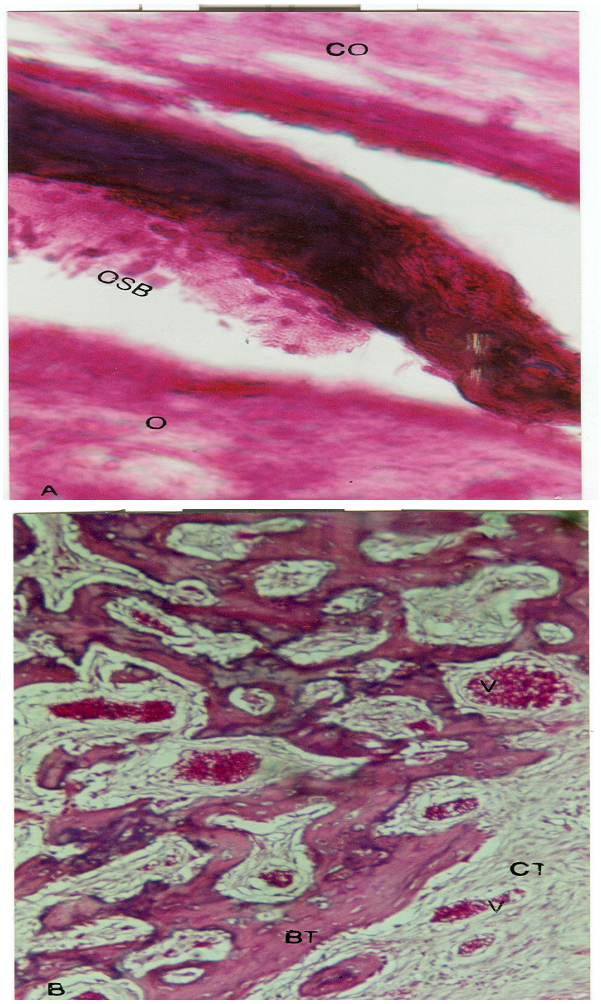
www.SID.ir

Archive of SID

جداگانه نظر خود را یادداشت نمود و در پایان تمامی یادداشت‌ها جمع‌بندی گردید.

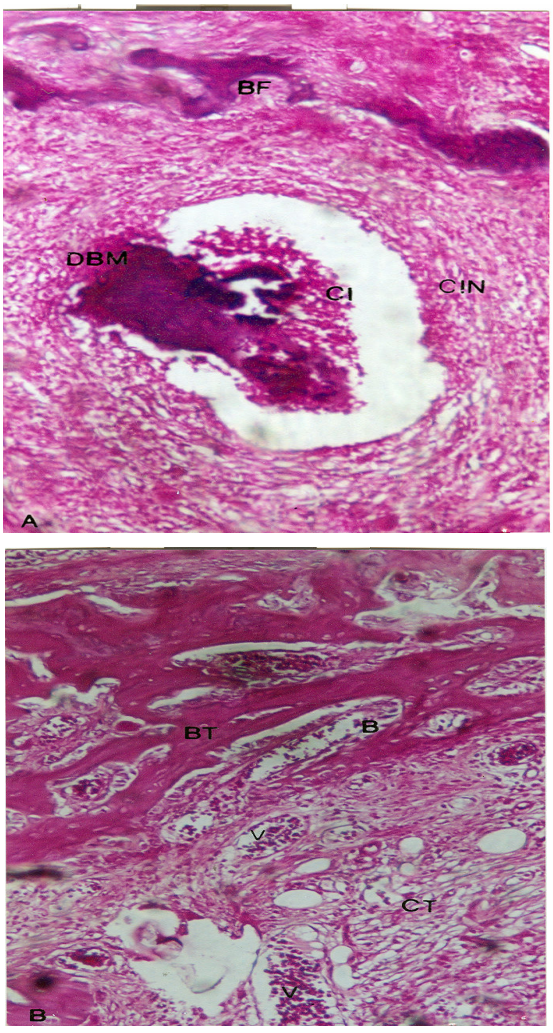
نتایج

در گروه ۴ تحت درمان با انسولین در پایان هفته اول، فعالیت استئوبلاستیک و تشکیل تیغه‌های استخوانی در مجاورت DBM و الیاف کلاژن مشاهده گردید. ذرات DBM با حاشیه‌های تیز و سطح فاقد سلول یا حفره خالی قابل تفکیک بود. این تغییرات در ۵ حیوان کاملاً واضح بود (حدود ۸۰٪ موارد). در پایان هفته دوم تشکیل استخوان به طریقه داخل غشایی، عروق و بافت همبند مشاهده گردید (شکل ۱).



شکل ۱- برش حفره دندانی در گروه تحت درمان با انسولین و DBM در هفته اول (A) و هفته دوم (B) را نشان می‌دهد. به فعالیت استئوبلاستیک و تشکیل ترابکول‌های استخوانی توسط استئوبلاست‌ها در مجاورت DBM در شکل (A) و رشد و تشکیل سریع ترابکول‌های استخوانی در شکل (B) توجه کنید. V: عروق خونی، BT: ترابکول‌های استخوانی شکل گرفته، CT: بافت همبند، CO: الیاف کلاژن، OSB: استئوبلاست‌ها O: استوئید، H&E×۶۳

در گروه سوم (دیابتیک و DBM) التهاب و ارتشاح سلولی در پایان هفته اول مشاهده گردید. استخوان‌سازی در اطراف ذرات DBM به طور محدود دیده شد. هم‌چنین ماکروفاژها و استئوکلاست‌های فعال شده در حال قطعه قطعه کردن DBM مشاهده شدند (۳ مورد، ۴۰٪موارد) و در بعضی نواحی هیچ‌گونه تغییری مشاهده نگردید. در این گروه در پایان هفته دوم تیغه‌های تازه شکل گرفته، بافت همبند و عروق خونی متسع فراوان، مشاهده گردید (شکل ۲).

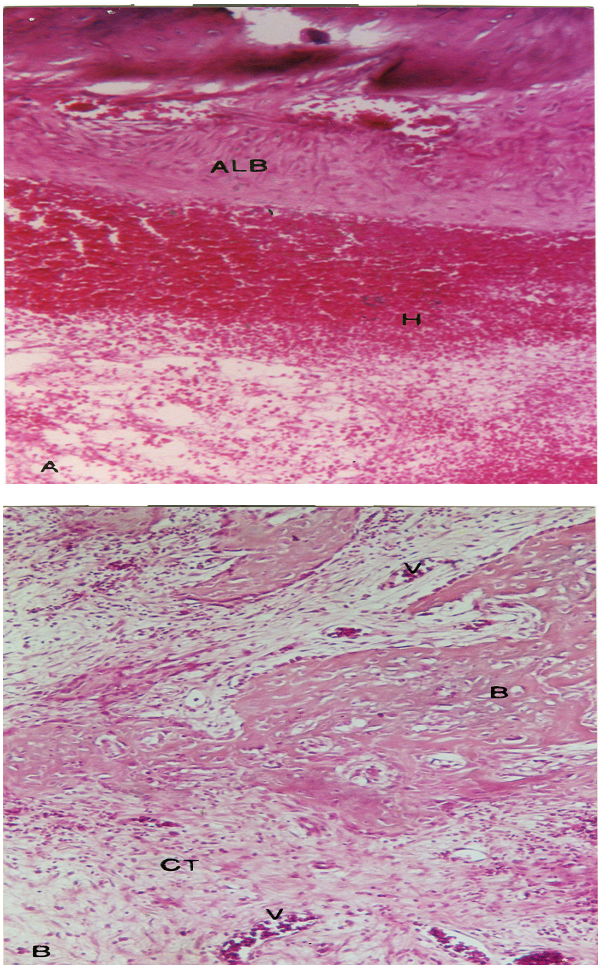


شکل ۲- برش حفره دندانی در گروه دیابتیک تحت درمان با DBM در هفته اول (A) و هفته دوم (B) را نشان می‌دهد. به التهاب و ارتشاح سلولی و فعالیت کلاستیک در اطراف قطعه DBM در (A) و ترابکول‌های کمتردر مقایسه با شکل ۲B توجه کنید. B: استئوبلاست‌ها، B.T: ترابکول‌های استخوانی، CT: بافت همبند، CIN: ارتشاح سلولی، DMB: ماده بنیادی دمینرالیزه استخوانی، CI: فعالیت کلاستیک در اطراف ذره BF, DBM: تشکیل ترابکول‌های استخوانی، H&E×۶۳

www.SID.ir

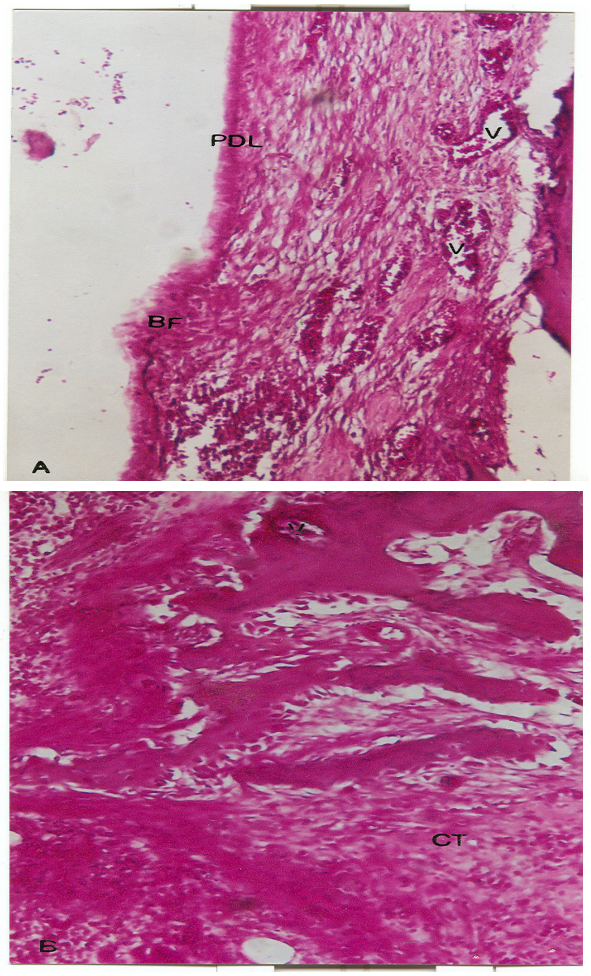
Archive of SID

در گروه دوم (دیابتیک) در پایان هفته اول، هماتوم نمای غالب بافتی بود. در پایان هفته دوم، استخوان‌سازی محدود بافت همبند، عروق متسع و استخوان‌سازی داخل غشایی در حال شکل‌گیری بود (شکل ۳).



شکل ۳- برش حفره دندانی در گروه دیابتیک در پایان هفته اول (A) و پایان هفته دوم (B) را نشان می‌دهد. به هماتوم در شکل (A) و محدودی ترابکول‌های استخوانی در (B) توجه کنید. .CT : بافت همبند، V : عروق خونی، B : استئوبلاست‌ها، H: هماتوم، AL.B : استخوان آلوئولار، ۶۳×H&E

در گروه کنترل در پایان هفته اول، فعالیت استخوان‌سازی محدود به نواحی از بافت لیگامان پریودنتال اطراف دندان کشیده شده بود و فعالیت التهابی و عروق متسع مشاهده شد. در پایان هفته دوم جزایر استخوانی در حال شکل‌گیری از طریق استخوان‌سازی داخل غشایی، عروق متسع، استئوسیت‌های جوان، استئوبلاست‌های جوان و بافت همبند قابل رویت بود(شکل ۴).



شکل ٤- برش حفره دندانی در گروه کنترل در پایان هفته اول (A) و پایان هفته دوم (B) را نشان می‌دهد. به فعالیت استخوان‌سازی در مجاورت لیگامان پریودنتال در (A) و به سلول‌های استخوانی لازم جهت تشکیل استخوان در (B) توجه کنید. PDL: لیگامان پریودنتال، C.T : بافت همبند. V : عروق خونی، BF : تشکیل استخوان، ٦٣ × H&E

بحث

مطالعه هیستولوژیک گروه ۴ (گروه دیابتیک تحت درمان با انسولین و DBM) نشان داد که پس از گذشت یک هفته، DBM قادر است اثرات القاء و هدایت استخوان‌سازی را بروز دهد به طوری که در پایان هفته اول تکه‌های DBM توسط سلول‌های استئوبلاست محاصره شده بودند و ماده استوئید مشاهده می‌شد و سلول‌های استئوبلاست در حال فعالیت کاملاً مشهود بودند. Chay و همکاران (سال ۲۰۰۰) با کاربرد ماتریکس دمینرالیزه استخوان در جمجمه نشان دادند که در روز ۵ می‌توان سلول‌های مزانشیمال، پره استئوبلاست و استئوسیت را در اطراف ذرات DBM مشاهده نمود [۲۸].

www.SID.ir

Archive of SID

خاصیت القاء و هدایت استخوان‌سازی DBM توسط تعدادی از پژوهشگران تأیید شده بود [۱۶،۱۹]. درباره مدت زمان لازم جهت القاء استخوان سازی اختلاف نظرهایی وجود دارد به طور مثال Weiss و همکارانش مدت زمان لازم برای القاء استخوان‌سازی را ۱۴ روز و برای تشکیل غضروف ۷ روز تخمین زده‌اند [۵].

Hardy و همکارانش ضمن تأیید خصوصیات استئوایناداکتیو و استئوکانداکتیو DBM به بررسی نوع خاصی از DBM به نام DBX (Demineralized bone matrix protein) پرداختند و این ماده را با OP-1 مورد مقایسه قرار دادند و به این نتیجه رسیدند که هر دو باعث افزایش تعداد استئوبلاست‌ها می‌گردند اما DBX در این مورد اثر بخش‌تر می‌باشد [۸]. به نظر می‌رسد تکه‌های DBM توانسته‌اند با کشاندن سلول‌های چند استعدادی و تمایز آن‌ها به استئوبلاست‌ها، فعالیت استخوان‌سازی را در این گروه القا نمایند. در همین رابطه Krugliakov و همکارانش (سال ۲۰۰۵) نقایص استخوان‌های آهیانه جمجمه یک گروه از موش‌های صحرایی را با DBM و گروه دیگر را با DBM و سلول‌های ریشه‌ای مزانشیمال پر کردند و نتایج نشان داد که در گروه دوم رگ‌سازی و استخوان‌سازی بهتر از گروه اول صورت گرفته است و در گروه دوم DBM باعث القاء تبدیل سلول‌های ریشه‌ای مزانشیمال به استئوبلاست‌ها گردیده است [۱۸]. در بعضی از گزارشات استخوان‌سازی در اطراف تکه‌های DBM را به دلیل آزاد شدن سیتوکین‌ها از DBM و هجوم سلول‌های چند استعدادی به منطقه جراحت می‌دانند [۲۹]. در گروه ۴ که علاوه بر DBM تحت تجویز انسولین قرار داشته‌اند، قندخون نیز کنترل گردیده است، در نتیجه از شدت التهاب و کاتابولیسم پروتئین‌ها کاسته شده و به نوبه خود منجر به افزایش تشکیل بافت استخوانی گردیده زیرا از فرآورده‌های انتهایی گلیکولیز که اثر سوء در ترمیم و تشکیل استخوان دارند کاسته شده است [۲]. بعضی از پژوهشگران به انسولین‌تراپی و اثرات مثبت تجویز آن جهت برطرف کردن عوارض دیابت بر روی بافت استخوانی اعتقاد دارند. برای مثال Perez و همکارانش (سال ۱۹۹۰) به بررسی تأثیر انسولین بر روی متابولیسم پروتئوگلیکان‌های استخوان پرداختند و مشاهده کردند که تجویز انسولین در موش‌های دیابتیک باعث نرمال شدن پروتئوگلیکان‌های استخوان می‌گردد [۶-۷]. در مقابل Horcajada-Molteni و همکارانش (سال ۲۰۰۱) عوارض استخوانی ایجاد شده در افراد دیابتیک را به جای ارتباط دادن به نقصان انسولین در این افراد، به Amylin نسبت دادند. آمیلین یک پپتید ۳۷ اسیدآمینه‌ای است که به طور همزمان با انسولین از سلول‌های بتای پانکراس ترشح می‌گردد. این پپتید با اتصال به گیرنده‌های کلسی‌تونین اعمال پایین آوردن غلظت کلسیم پلاسما، مهار کردن فعالیت استئوکلاست‌ها و تحریک استئوبلاست‌ها را انجام می‌دهد.

از آن جا که در افراد دیابتی آمیلین ترشح نمی‌شود عوارض بافت استخوانی حادث می‌گردد و با توجه به این دانسته‌ها Molteni با طراحی مطالعه‌ای، به این نتیجه رسید که تجویز آمیلین به موش‌های صحرایی دیابتیک مانع از تغییرات بافت استخوانی می‌گردد [۳۰]. در گروه ۳ (گروه دیابتیک تحت تجویز DBM) در پایان هفته اول می‌توان تیغه‌های ظریف در اطراف تکه‌های DBM را مشاهده کرد. به دلیل فعالیت التهابی، تخریب و قطعه قطعه شدن ذرات DBM، استخوان‌سازی بسیار محدود صورت گرفت. در پایان هفته دوم علاوه بر تشکیل بافت استخوانی، ارتشاح سلولی هنوز دیده می‌شد ولی عدم تجویز انسولین در این گروه، فعالیت استخوان‌سازی را تحت تأثیر قرار داده بود. اثرات DBM در روند هدایت استخوان‌سازی در ۴۰٪ موارد دیده شد. Galjour و همکارانش (سال ۲۰۰۵) اظهار می‌دارند که اگرچه DBM سال‌ها است به عنوان یک ماده پیوندی استئوکانداکتیو و استئوایناداکتیو مورد استفاده پزشکان بوده است اما مشکلی که وجود دارد این است که محل نقایص پر شده با DBM دچار عفونت‌های باکتریایی می‌گردد و در نتیجه باعث ناکارآمدی این ماده خواهد شد و به همین دلیل او و همکارانش DBM و یک آنتی‌بیوتیک را با هم مورد استفاده قرار دادند و بدین ترتیب مشکل التهاب و ارتشاح سلولی ناشی از عفونت را

www.SID.ir

Archive of SID

کنترل نمودند [۱۳] بنابراین در گروه ۳، کاهش اثر بخشی DBM به دلیل تغییرات متابولیک ناشی از کمبود انسولین و افزوده شدن التهاب و یا عفونت در محل به صورت توأم می‌باشد.

در گروه ۲ که هیچ درمانی را دریافت نکردند عدم تجویز انسولین و درمان دیابت اثرات تأخیری در استخوان‌سازی را به نحو بارزی بر جای گذاشته بود و مقایسه گروه‌های دوم و سوم حکایت از تشکیل بافت استخوانی بیشتری در گروه سوم داشت که به دلیل استفاده از DBM و اثر القای آن است. در گروه ۱ که به منظور بررسی سیر طبیعی تشکیل بافت استخوانی پس از کشیدن دندان در این مطالعه گنجانده شده بود در پایان هفته اول، استخوان‌سازی از محیط به مرکز در قسمت‌هایی از بقایای لیگامنت پریودنتال دیده شد. مطالعات امروزه نشان داده است که مکانیسم استخوان‌سازی سریع پس از کشیدن دندان که در بافت سالم صورت می‌گیرد حاصل تخریب لیگامنت پریودنتال، کلاژن و تأثیر فیبرونکتین است [۳۱]. DBM احتمالاً اثرات خود را از طریق مکانیسم‌هایی هم‌چون آزاد کردن سیتوکین‌ها و پروتئین‌های مورفوژنیک استخوان (BMPs) اعمال می‌نماید و هم‌چنین وجود حفرات و شبکه کلاژن موجود در ذرات DBM در بیومینرالیزاسیون و ایجاد یک داربست برای تکثیر و تمایز سلول‌های اجدادی استخوان شرکت می‌کند [۲۰-۱۹]. اما فاکتورهای مختلفی این اعمال را متأثر می‌سازد که از جمله آن‌ها pH مناسب و گروه‌های هیدروکسیل است که در دیابت دچار نقص می‌شوند [۲،۳۱]. طول دوره بیماری، درجه خلوص DBM، درجه حرارت و رطوبت محیط از فاکتورهای دیگری است که بر اثربخشی DBM مؤثر است [۷،۱۴،۱۹]. محققین دیگر، عواملی مثل سن و جنس استخوانی که DBM از آن استخراج گردیده است را در این امر دخیل می‌دانند [۱۲].

آن چنان که در گروه‌های دوم و سوم مشاهده شد، هر چند که DBM اثرات القایی کمی در گروه ۳ (درمان نشده) نشان داد، به نظر می‌رسد که عوامل دیگری مثل تغییرات pH، کاتابولیسم پروتئین و برخی عوامل دیگر، اثرات آن را تقلیل داده‌اند.

نتیجه‌گیری

تحقیق حاضر نشان داد که DBM می‌تواند در حضور بیماری دیابت کنترل شده، اثرات القایی در استخوان‌سازی داشته باشد و ماده‌ای مناسب جهت پیوند است. چون مطالعه حاضر تنها براساس مشاهدات بافت شناسی صورت گرفته است، تأیید نتایج به دست آمده احتیاج به انجام مطالعات گسترده‌تر با بهره‌وری از تکنیک‌های جدیدتر و در نظر گرفتن تمامی عوامل مؤثری دارد که به برخی از آن‌ها در بالا اشاره گردید.

References

[1] William. Text book of endocraniology Larsen aree. Chapter c, 10 th ed, Volume 2. 2003; pp: 1485-8.

[2] Santana RB, Xu L, Chase HB, Amar S, Graves DT, Trackman PC. A role for advanced glycation end products in diminished bone healing in type 1 diabetes. *Diabetes*. 2003; 52(6): 1502-10.

[3] Broulik PD, Haluzik M, Skrha J. The influence of nitric oxide synthase inhibitor L-NAME on bones of male rats with streptozotocin-induced diabetes. *Physiol Res*, 2003; 52(6): 729-34.

[4] Tein MS, Breen SA, Loveday BE, Devlin H, Balment RJ, Boyd RD, et al. Bone mineral density and composition in rat pregnancy: effects of streptozotocin-induced diabetes mellitus and insulin replacement. *Exp Physiol*, 1998; 83(2): 165-74.

[5] Weiss RE, Gorn AH, Nimni ME. Abnormalities in the biosynthesis of cartilage and bone proteoglycanes in experimental diabetes. *Diabetes*. 1981; 30(8): 670-7.

[6] Perez C, Suarez C, Kofoed J. Proteoglycanes in bones streptozotocin-induced diabetic rats. *Arch Int Pharmacodyn Ther*, 1990; 305: 189-96.

[7] Zhang XZ, Shi MZ, Dang GD. Effect of insulin therapy on abnormal bone and mineral metabolism in chronic

www.SID.ir

Archive of SID

streptozotocin-induced diabetic rat. *Zhonghua Nei ke Za Zhi*, 1992; 31(11): 674-7, 729.

[8] Hardy T, Benghuzzi H, Russell G, Cameron J, Tucci M. The effects of demineralized bone martix proteins and osteogenic protein-1 on bone cells isolated in culture. *Biomed Sci Instrum*, 2006; 42: 66-71.

[9] Callan DP, Salked SL, Scarborough N. Histologic analysis of implant sites after grafting with Demineralized bone matrix Putty and sheets. *Implant Dent*, 2000; 9(1): 36-44.

[10] Zubillaga G, Von Hagen S, Simon BI, Deasy MJ. Changes in alveolar bone height and width following post-extraction ridge augmentation using a fixed bioabsorbable membrane and demineralized freeze-dried Bone osteoinductive graft. *J Periodontol*, 2003; 74(7): 965-75.

[11] Zuzarte-luis V, Montero JA, Rodriquez-Leon J, Merino R, Rodriquez-Rey JC, Hurle JM. A new role for BMP5 during limb development acting through the synergic activation of Smad and MAPK pathways. *Dev Biol*, 2004; 272(1): 39-52.

[12] Traianedes K, Russell JL, Edwards JT, Stubbs HA, Shanahan IR, Knaack D. Donor age and gender effects on osteoinductivity of demineralized bone matrix. *J Biomed Master Res B Appl Biomater*, 2004; 15: 70(1): 21-9.

[13] Galjour C, Dzugan S, Graves M, Benghuzzi H, Russell G, Tucci M, et al. Stimulation of fracture healing by continuous delivery of demineralized bone matrix proteins and tobramycin. *Biomed Sci Instrum*, 2005; 41: 122-7.

[14] Hu ZM, Peel SA, Sandor GK, Clokie CM. The osteoinductive activity of bone morphogenetic protein (BMP) Purified by repeated extracts of bovine bone. *Growth Factors*. 2004; 22(1): 29-33.

[15] Bibbo C, Patel DV. The effect of demineralized bone matrix-calcium sulfate with vancomycin on calcaneal fracture healing and infection rates: a prospective study. *Foot Ankle Int*, 2006; 27(7): 487-93.

[16] Aaron RK, Ciombor DM, Wang S, Simon B. Clinical biophysics: the promotion of skeletal repair by physical forces. *Ann N Y Acad Sci*, 2006; 1068: 513-31.

[17] Woo C, Li H, Baatrup A, Krause A, Kassem M, Bunger C, et al. Effects of bone protein extraction human mesenchymal stem cells proliferation and differentiation. J *Biomed Master Res A*, 2006; 79(3): 552-6.

[18] Krugliakov PV, Sokolova IB, Zinkova NN, Viide SV, Cherednichenko NN, Kisliakova TV, et al. The influence of mesenchymal stem cells on bone tissue regeneration upon implantation of demineralized bone matrix. *Tsitologiia*. 2005; 47(6): 466-77.

[19] Han B, Yang Z, Nimni M. Effects of moisture and temperature on the osteoinductivity of demineralized bone matrix. *J Orthop Res*, 2005; 23(4): 855-61.

[20] Liu Y, Ahmad S, Shu XZ, Sanders RK, Kopesec SA, Prestwich GD. Accelerated repair of cortical bone defects using a synthetic extracellular matrix to deliver human demineralized bone matrix. *J Orthop Res*, 2006; 24(7): 1454-62.

[21] Landesman R, Reddi AH. Induction of endochondral bone by demineralized bone matrix from diabetic rats. *Calcif Tissue Int*, 1985; 37(6): 630-4.

[22] Habal MB. Reconstruction of a large congenital cranioorbital defect with a species-specific deminalized bone implant. *J Craniofac Surg*, 1992; 3(2): 113-8.

[23] Pietrzak WS,Woodell –May J, McDonald N. Assay of bone morphogenetic protein-2, -4, -7 in human demineralized bone matrix. *J Craniofac Surg*, 2006; 17(1); 84-90.

[24] Wang J, Glimcher MJ. Characterization of Matrix-Induced osteogenesis in rat calvarial bone defects: II. Origins of bone-forming cells. *Cacif Tissue Int*, 1999; 65(6): 486-93.

[25] Tang LQ, Wei W, Chen LM, Liu S. Effects of berberine on diabetes induced by alloxan and a high-fat/high-cholestrol diet in rats. *J Ethnopharmacol*. 2006 3; 108(1): 109-15.

[26] Grandini SA, Brentegani, LG, Novaes AB, Migliorini RH. Protein Synthesis in wound after tooth extraction in Pancreatectomized diabetic rats. *Braz Dent J*, 1990; 1 (1): 25-30.

[27] Kim CK, Cho KS, Choi SH, Prewett A, Wikesjo UM. Periodontal repair in dogs: effect of allogenic freeze-dried demineralized bone matrix implants on alveolar bone and cementum regeneration. *J Periodontol*, 1998; 69(1): 26-33.

[28] Chay SH, Rabie AB, Itthagarun A. Ultrastrucural identification of cells involved in the healing of intramembranous bone grafts in both the presence and absence of demineralized intramembranous bone matrix. *Aust Orthod J*, 2000; 16(2): 88-97.

[29] Mythili J, Sastry TP, Subramanian M. Perparation and characterization of a new bioinorganic composite: collagen and hydroxyapatite. *Biotechnol APPL Biochem,* 2000; 32(Pt3): 155-9.

[30] Horcajada-Moltein MN, Chanteranne B, Lebecque P, Davicco MJ, Coxam V, Young A, et al. Amylin and bone metabolism in streptozotocin-induced diabetic rats. *J Bone Miner Res*, 2001; 16(5): 958-65.

[31] Pinholt EM, Haanaes HR, Donath K, Bang G. Titanium implant insertion into dog alveolar ridges augmented by allogenic material. *Clin Oral Implants Res*, 1994; 5(4); 213-9.

www.SID.ir