تأثیـــــر هورمـــون کلسیتونیـــــن در ترمیم استخـــوان در خوکچه‌های هندی

دکتر محمدعلی عرفانی [*]
دکتر حمید نمازی [*]
دکتر محمدتقی وصال [**]

[*]متخصص ارتوپدی، استادیار دانشگاه علوم پزشکی شیراز، بیمارستان شهید چمران، بخش ارتوپدی
[**]متخصص ارتوپدی، دانشگاه علوم پزشکی شیراز، بیمارستان شهید چمران، بخش ارتوپدی

تاریخ وصول :۱۳۸۴/۱۰/۲۴
تاریخ پذیرش :۱۳۸۴/۱۲/۱۰

مؤلف مسئول: دکتر حمید نمازی
پست الکترونیک:Namazih@sums.ac.ir

چکیده:

مقدمه و هدف: به نظر می‌رسد هورمون کلسیتونین بـــا توجه به تأثیرات اسـتخوانی متعـدد یعنی؛ مهار فعالیت سلول استئوکلاست و فعال کردن سلول استئوبلاست، تـأثیرات مهمـی در ترمیم استخوان داشته باشد. هـدف از ایـن مطالعـه بررسـی تـأثیر ایـن هورمـون در تـرمیم استخوان می‌باشد.

مواد و روش‌ها: تحقیق حاضر یک مطالعه تجربی دوسوکور بر روی حیوانات آزمایـشگاهی است که در بخش ارتوپدی دانشگاه علوم پزشکی شیراز با همکاری خانه حیوانـات دانـشکده پزشکی در سال ۱۳۸۳ انجام گرفته است. ابتدا ۳۰ قلاده خوکچه هندی نژاد انگلیسی بـه سـه گروه مساوی ده تایی تقسیم شدند. سپس در تمام این خوکچه ها عمل جراحـی بـه صـورت سوراخ کردن قسمت ابتدایی استخوان درشت‌نـی انجـام شـد. در گـروه A، بـه مـدت ۷ روز کلسیتونین با دوز ۳۰ واحد به ازای هر کیلوگرم بـه صـورت درون صـفاقی تزریـق شـد، در گروه B هورمون همانند گروه قبلی با همان میزان و مدت، به صورت زیرپوستی تزریق شـد و در گروه C به عنوان گروه کنترل انتخاب شد. در هـر گـروه نیمـی از خوکچـه‌هـا در هفتـه دوم و نیمی دیگر در هفته چهارم کشته شدند. مقـاطع مختلـف از اسـتخوان‌هـای درشـت‌نـی گرفته شد و در تمام گروههـا، اطلاعـات مربـوط بـه تغییـرات پـرده ضـریع و اسـتخوان‌هـای کورتیکال و اسفنجی در فرم اطلاعـاتی ثبـت شـد. داده‌هـای جمـع‌آوری شـده بـا اسـتفاده از نرم‌افزارSPSS و شاخصهای توصیفی و آزمون آماری کروسکال والـیس تجزیـه و تحلیـل شدند.

یافته‌ها: افزایش تولید پـرده ضـریع در هفتـه دوم در گروههـای A_2 و B_2 بـا گـروه کنتـرل اختلاف معنی‌داری داشت($p = ۰/۰۰۹$) که این افزایش تولید در هفته چهـارم بـا گـروه کنتـرل اختلاف معنی‌داری نداشت. تشکیل استخوان کورتیکال و اسفنجی در گروههـای A_2 و B_2 در هفته دوم و چهارم اختلاف معنی‌داری با گروه کنترل نداشت.

نتیجه‌گیری: هورمون کلسیتونین در تشکیل پرده ضریع در مراحـل اولیـه تـرمیم اسـتخوان کمک کننده می‌باشد.

واژه‌های کلیدی: کلسیتونین، ترمیم استخوان، پرده ضریع

Archive of SID
www.SID.ir

مقدمه

هورمون کلسیتونین[1] یک هورمون پلی‌پپتید است که از سلول‌های پارافولیکولار[2] مربوط به غده تیروئید ترشح می‌شود. از این هورمون در درمان بیماریهای مختلفی از جمله پاژه، هیپرکلسمی، پوکی‌استخوان و دردهای استخوانی استفاده شده است. تأثیرات استخوانی آن وابسته به مهار کردن فعالیت سلول‌های استئوکلاست[3] و فعال کردن سلول‌های استئوبلاست[4] می‌باشد. همچنین بر خلاف هورمون پاراتورمون از جذب کلسیم از استخوان جلوگیری می‌کند (۲و ۱).

غلظت پلاسمایی هورمون کلسیتونین در دو مرحله رشد سریع استخوان یعنی؛ دوران کودکی و مراحل اولیه ترمیم شکستگی، افزایش می‌یابد. به نظر می‌رسد به دلیل این افزایش سطح سرم باید این هورمون در این مراحل نقش داشته باشد، اما نقش دقیق آن تا به حال مورد بحث بوده است. به علاوه، به دلیل نقش آن در مهار سلول‌های استئوکلاست و فعال کردن سلول‌های استئوبلاست و جلوگیری از جذب کلسیم از استخوان به نظر می‌رسد این هورمون در ترمیم استخوان مؤثر باشد(۳). بنابراین این هورمون می‌تواند ترمیم استخوان را تسریع کند که البته درمورد این موضوع نظرات مختلفی ارایه شده است(۵ و۴). در این تحقیق سعی شده است تأثیر این هورمون بر روی پدیده ترمیم استخوان بررسی گردد.

مواد و روش‌ها

این مطالعه تجربی دوسوکور بر روی حیوانات آزمایشگاهی در بخش ارتوپدی دانشگاه علوم پزشکی شیراز با همکاری خانه حیوانات دانشکده پزشکی در سال ۱۳۸۳ انجام گرفته است. این تحقیق قبل از انجام به وسیله کمیته اخلاق دانشگاه علوم پزشکی مورد تأیید قرار گرفت. این پژوهش بر روی ۳۰ عدد خوکچه هندی مو کوتاه سفید قهوه‌ای نژاد انگلیسی با وزن متوسط حدود ۵۰۰ گرم انجام گرفته است که به سه گروه ده تایی تقسیم شدند. در گروه A، پس از بیهوشی عمومی به وسیله کتامین[5] و زایلازین[6] هر دو ساق حیوانات تراشیده شده و با یک برش کوچک، یک حفره دو میلی‌متری در ناحیه خلفی به توبروزیته استخوان درشت‌نی ایجاد شد. از روز اول بعد از عمل، روزانه به مدت یک هفته، کلسیتونین با دوز ۳۰ واحد به ازای هر کیلوگرم به صورت درون صفاقی تزریق شد. در گروه B، نیز همانند گروه قبلی جراحی انجام گرفت، اما کلسیتونین با همان دوز روزانه به مدت یک هفته به صورت زیرپوستی تزریق شد. در گروه C، نیز همانند گروههای قبلی جراحی انجام گرفت، اما کلسیتونین تزریق نشد که به عنوان گروه کنترل در نظر گرفته شد.

1-Calcitonin
2-Parafollicular
3-Osteoclast
4-Osteoblast
5-Ketamin
6-Xylazine

www.SID.ir
Archive of SID

پراکندگی جنسیت در هر سه گروه یکسان بود. در همه گروهها، تزریق روزانه پنی‌استرپ انجام گرفت. در هر گروه نیمی از حیوانات در هفته دوم (A_2,B_2,C_2) و نیمی دیگر در هفته چهارم (A_4,B_4,C_4)به وسیله گاز دی‌اکسیدکربن به صورت بدون درد کشته شدند. بعد از اتوپسی هر دو ساق جدا شده و به آزمایشگاه پاتولوژی فرستاده شد که از هر استخوان، ۲۰ اسلاید به ضخامت نیم میلی‌متر تهیه شده و به وسیله هماتوکسیلین و ائوزین[1] رنگ آمیزی شد.

بررسی تمامی اسلایدها به وسیله یک پاتولوژیست انجام گرفت. در بررسی پاتولوژی، کیفیت استخوان تشکیل شده چه به صورت اندوکوندرال[2] یا اینترامبرانوس[3] در قسمت‌های کورتیکال و اسفنجی و ضریع استخوان ساق ثبت گردید. ملاک تعیین کیفیت استخوان‌سازی؛ شکل سلول‌ها، نظم سلولی، قطر و نوع بافت تشکیل شده می‌باشد.

جهت بررسی عوارض احتمالی تزریق دوز زیاد این هورمون، قبل از انجام این تحقیق یک مطالعه مقطعی بر روی دو حیوان انجام شد که هر دو حیوان زنده ماندند و هیچ عارضه‌ای دیده نشد.

داده‌های جمع‌آوری شده در فرم اطلاعاتی ثبت و با استفاده از نرم‌افزار SPSS[4] و شاخص‌های توصیفی و آزمون آماری کروسکال والیس[5] تجزیه و تحلیل شدند.

یافته‌ها

از گروههای B و A هر کدام دو خوکچه و از گروه C یک خوکچه در سه روز اول بعد از عمل از بین رفتند و یک اسلاید از گروه C (یک ساق در یک حیوان) از مطالعه خارج شد. علت احتمالی مرگ این حیوانات مشکلات بیهوشی می‌باشد. در فاصله زمانی بین جراحی تا کشتن حیوانات هیچ بیماری یا عفونت زخم دیده نشد. بنابراین ۱۶ عدد نمونه از هر کدام از گروههای B و A و ۱۷ عدد از گروه C وارد مطالعه شد که چهار خوکچه در هر کدام از گروههای B و A (۸ نمونه در هر گروه) و پنج خوکچه در گروه C (۹نمونه) در هفته دوم (A_2،B_2 و C_2) و بقیه در هفته چهارم (A_4،B_4 وC_4) کشته شدند.

نتایج در گروههای A_2، B_2 وC_2 نشان داد که درصد تشکیل پرده ضریع نسبت به کل قطر استخوان در گروههای A_2، B_2 و C_2 به ترتیب؛ ۴۵ درصد، ۲۸/۱۲ درصد و صفر درصد می‌باشد.

درصد تشکیل استخوان کورتیکال نسبت به کل قطر استخوان در گروههایA_2 ، B_2 وC_2 به ترتیب؛ ۱۰ درصد، ۲۰ درصد و ۲/۲۲درصد می باشد.

درصد تشکیل استخوان اسفنجی نسبت به کل قطر استخوان در گروههای A_2، B_2، C_2 به ترتیب؛ ۳۹/۲۷ درصد، ۲۱/۸۷ درصد و ۲۲/۲۲درصد می‌باشد.

1-Hematoxylene & Eosine
2-Endochondral
3-Intramembranous
4-Statistical Package for Social Sciences
5-Kruskall Wallis Test

Archive of SID
www.SID.ir

نتایج در گروههای A_4، B_4 و C_4 نشان داد که درصد تشکیل پرده ضریع نسبت به کل قطر استخوان در گروههای A_4، B_4 و C_4 به ترتیب؛ ۸۰/۶۵ درصد، ۷۲/۵ درصد و ۶۵/۶۲ درصد می‌باشد.

درصد تشکیل استخوان کورتیکال نسبت به کل قطر استخوان در گروههای A_4، B_4 و C_4 به ترتیب؛ ۸۰ درصد، ۴۲/۵ درصد و ۴۸/۷۵ درصد می‌باشد.

درصد تشکیل استخوان اسفنجی نسبت به کل قطر استخوان در گروههای A_4، B_4 و C_4 به ترتیب؛ ۷۰ درصد، ۶۳/۷۵ درصد و ۴۳/۷۵ درصد می‌باشد.

آزمون آماری کروسکال والیس نشان داد که افزایش تولید پرده ضریع در هفته دوم در گروه‌های A_2 و B_2 با گروه کنترل اختلاف معنی‌داری دارد($p = ۰/۰۰۹$) که این افزایش تولید در هفته چهارم با گروه کنترل اختلاف معنی‌داری نداشت. همچنین تشکیل استخوان کورتیکال و اسفنجی در گروههای A_2 و B_2 در هفته دوم و چهارم اختلاف معنی‌داری با گروه کنترل نداشت.

بحث و نتیجه‌گیری

یکی از مباحث قدیمی در ترمیم استخوان، تأثیر احتمالی هورمون کلسیتونین می‌باشد که در این مورد نظرات متفاوتی وجود دارد. غلظت پلاسمایی هورمون کلسیتونین در دو مرحله رشد سریع استخوان، یعنی دوران کودکی و مراحل اولیه ترمیم شکستگی، افزایش می‌یابد. به نظر می‌رسد به دلیل این افزایش سطح سرم باید این هورمون در این مراحل نقش داشته باشد، اما نقش دقیق آن تا به حال مورد بحث بوده است. به علاوه، به دلیل نقش آن در مهار سلول‌های استئوکلاست و فعال کردن سلول‌های استئوبلاست و جلوگیری از جذب کلسیم از استخوان به نظر می‌رسد این هورمون در ترمیم استخوان مؤثر باشد(۳ ـ ۱).

افزایش تولید پرده ضریع در هفته دوم در گروههای A_2 و B_2 با گروه کنترل اختلاف معنی‌داری داشت که این افزایش تولید در هفته چهارم با گروه کنترل اختلاف معنی‌داری نداشت. تشکیل استخوان کورتیکال و اسفنجی در هفته دوم و چهارم اختلاف معنی‌داری با گروه کنترل نداشت.

زمان متوسط ترمیم شکستگی ساق پا در خوکچه هندی ۶ هفته می باشد که برای تعیین نتایج تزریق هورمون در مراحل اولیه و نهایی ترمیم استخوان، دو زمان دو و چهار هفته مناسب به نظر می‌رسید.

زیگلر و دیلینگ[1] (۱۹۷۲) در مطالعه خود نقش کلسیتونین در پدیده ترمیم استخوان را تأیید کرده بودند (۶)، اما در تحقیق دیگری به وسیله شاتزکر و همکاران[2] (۱۹۷۹) این نقش ثابت نشد(۷).

1-Zigler & Delling
2-Schatzker et al

Archive of SID
www.SID.ir

لیندرن و همکاران [1] (۱۹۸۱) نقش کلسیتونین را فقط پیشگیری از پوکی استخوان می‌دانند و هیچ نقشی بر روی ترمیم برای آن مطرح نمی‌کنند(۸).

اکلند و همکاران[2] (۱۹۸۳) نقش کلسیتونین را یک نقش مهاری بر ترمیم استخوان دانستند(۹). میلر و همکاران [3] (۱۹۸۵) و ستینوس و آک گوموس[4] (۲۰۰۰) نیز هیچ نقشی در ترمیم استخوان برای این هورمون قایل نشده‌اند(۱۱ ـ ۱۰).

در این تحقیقات، از هورمون کلسیتونین با دوز کم استفاده شده است، اما در تحقیق حاضر، تأثیر دوز زیاد کلسیتونین یعنی ۳۰ واحد به ازای هر کیلوگرم بررسی شده است. به نظر می‌رسد یکی از دلایل وجود نتایج مختلف و یا حتی تأثیر منفی این هورمون در تحقیقات قبلی، به دلیل استفاده از این هورمون به صورت دوز کم می‌باشد.

نحوه استفاده این دارو در تحقیقات مختلف متفاوت بوده است و برخی از راه درون صفاقی و برخی دیگر از روش تزریق زیرپوستی استفاده کرده‌اند، اما در این تحقیق هر دو روش استفاده شد که در موارد مورد بررسی هیچ گونه تفاوت معنی‌داری با یکدیگر نداشتند.

نتایج تحقیق حاضر نشان داد که تنها تفاوت بین گروههای مورد مطالعه در تشکیل پرده ضریع در هفته دوم می‌باشد که این تفاوت در هفته چهارم دیده نشد.

از جمله نکات قابل توجه، عدم تفاوت روش استفاده از هورمون کلسیتونین می‌باشد، زیرا تفاوت معنی‌داری بین دو روش درون صفاقی و زیرپوستی دیده نشد. در تمامی گروهها تشکیل استخوان اسفنجی و کورتیکال در هر کدام از مراحل ابتدایی و انتهایی ترمیم تفاوت معنی‌داری نداشتند که نشانه عدم تأثیر آن در مراحل نهایی ترمیم می‌باشد. بنابراین می‌توان گفت کلسیتونین در دوز زیاد، یک داروی مؤثر در افزایش سنتز پرده ضریع در مراحل اولیه تشکیل استخوان می‌باشد، اما در مراحل انتهایی تأثیر قابل توجهی ندارد، همچنین این هورمون هیچ تأثیر مهمی بر تشکیل استخوان اسفنجی یا کورتیکال ندارد. بنابراین تعیین کلیه تأثیرات این هورمون نیاز به بررسی‌های وسیع‌تر در حیوانات بزرگتر دارد و نیز در نظر گرفتن تمامی جنبه‌های تشکیل استخوان مثل رادیولوژی، بیوشیمی و هیستولوژی با ارزش می‌باشد.

تقدیر و تشکر

بدین وسیله از اعضای محترم شورای پژوهشی دانشگاه علوم پزشکی شیراز و کلیه کسانی که در مراحل مختلف طرح همکاری نموده‌اند تشکر می‌کنیم.

1-Lindren et al
2-Ekeland et al
3-Miller et al
4-Cetinus & Akgumus

www.SID.ir

Efficacy of Calcitonin on Bone Healing in Guinea Pigs

Erfani MA[*]**,**
Namazi H[*]**,**
Vesal MT[**]**.**

[*]Assistant Professor of Orthopaedic Surgery, Department of Orthopaedic Surgery, Shaheed Chamran Hospital, Shiraz University of Medical Sciences, Shiraz, Iran
[**]Orthopaedic Surgeon, Shaheed Chamran Hospital, Shiraz University of Medical Sciences, Shiraz, Iran

KEYWORDS:
Calcitonin,
Bone healing,
Periosteum

Received: 24/10/1384
Accepted: 10/12/1384

Corresponding Author: Namazi H
Email: Namazih@sums.ac.ir

ABSTRACT:

Introduction & Objective: Theoretically, it seems that calcitonin can accelerate the healing process, mainly by decreasing bone resorption, but in the literature, there are lots of controversies. The aim of this study is to evaluate the efficacy of calcitonin on bone healing.

Materials & Methods: This experimental double blind study was performed on laboratory animals in 1383 at Shiraz University of medical sciences, Department of orthopaedic surgery. Thirty guinea pigs were divided into three groups of ten. Then, they were operated and drilled in proximal part of both tibias. In group A, after operation, calcitonin (30 IU/kg) was injected intraperitonealy (IP) for 7 days. In group B, the injections were subcutaneous for the same time and dose. Group C was selected as control group. Half of the guinea pigs in each group were sacrificed after 2 weeks (A2, B2, C2) and the others after 4 weeks (A4, B4, C4). Multiple sagittal sections were performed on the tibia. In all groups, the formation of periosteum, cortical and trabecular bones were measured. Collected data were analyzed using Kruskall- Wallis test.

Results: In A2 and B2 group, the difference of periosteal formation was significant as compared with the control group (p= 0.009). The difference of periosteal formation was even more significant in A2 (IP injection) than in B2 (subcutaneous injection) group. The difference of cortical and trabecular bone formation in groups A2 B2 were not significant in comparison with the control group during the second and fourth weeks.

Conclusion: High dose of systemic calcitonin is effective for the rapid formation of periosteum in the early stage of bone healing.

Archive of SID

www.SID.ir

REFERENCES:

1.Bringhurst FR, Demay MB, Kronenberg HM. Hormons and disorders of mineral metabolism. in: Wilson JD, Foster DW, Kronenberg HM, Larsen PR(editors). Williams' textbook of endocrinology. 10th ed. NewYork: Saunders; 2003; 452-75.
2.Martin JR, Moseley JM, Sextone PM. Calcitonin. In: Narechania RG, McBeath AA. (editors). Endocrinology .4th ed. New York : Saunders; 2001; 631-47.
3.Becker KL, Muller B, Nylen ES. Calcitonin. In: Kestenbaurn RS, Shany S (editors). Principles and practice of endocrinology. 3rd ed. New York: Lippincott williams and wilkins; 2001; 520-33.
4.Sweetman SC. Martindale' the complete drug reference . 33rd ed. New York: Pharmaceutical press; 2002; 730-44.
5.Marcus R. Agents affecting calcification and bone turn over. in: Hardman JG, Limbird LE, Gilman AG (editors). Goodman and Gillman's the pharmacological basis of therapeutics. 10th ed. New York: McGraw-Hill: 2001; 1715-43.
6.Ziegler R, Delling G. Effect of calcitonin on the regeneration of a circumscribed bone defect (hole in the tibia of rat). Acta Endocrinologica 1972; 69: 497-506.
7.Schatzker I, Chapman M, Ha'Eri GB. The effect of calcitonin on fracture healing. Clin Orthop 1979; 141:303-6.
8.Lindgren FU, Narechania RG, McBeath AA. Effect of 1,24 dihydroxyvitamin D3 and calcitonin on fracture healing on adult rats. Clin Orthop 1981; 160: 304-8.
9.Ekeland A, Gautvik KM, Underdal T. Calcitonin producing tumor. Acta Orthop Scand 1983; 54(5): 760-7.
10.Meller Y, Kestenbaurn RS, Shany S. Parathormone, calcitonin and vitamin D metabolites during normal fracture healing in geriatric patients. Clin Orthop 1985; 199: 272-9.
11.Cetinus E, Akgumus M. Effects of the calcitonin hormone on fracture healing. Arthroplasty Arthroscopic Surg 2000; 11(2):179-83.

Archive of SID

www.SID.ir