Archive of SID

پاتوبیولوژی مقایسه‌ای، علمی ـ پژوهشی، سال پانزدهم، زمستان، شماره ۴، ۱۳۹۷، ۲۶۴۴-۲۶۳۵

ارزیابی آسیب‌شناسی بافتی نانوکامپوزیت تری کلسیم فسفات در مقایسه با نانوکامپوزیت هیدروکسی آپاتیت بر روند التیام نقیصه ایجاد شده در استخوان ران خرگوش

هادی افتخاری[۱]، علیرضا جهاندیده*[۲]، احمد اصغری[۲]، ابوالفضل اکبرزاده[۳]، سعید حصارکی[٤]

چکیده

از دست دادن قطعات استخوانی که اغلب ناشی از ضربه، عفونت، برداشت توده و یا حتی عدم بازسازی کامل استخوان پس از شکستگی‌های پیچیده می‌باشد یکی از چالش‌های همیشگی در پزشکی و دامپزشکی محسوب می‌شود. طی دهه‌های اخیر تلاش‌های فراوانی به منظور دست یابی به موادی که توانایی بازسازی استخوانی بالایی داشته باشند و بتوانند جایگزین مطمئن پیوندهای اتوگرافت یا زنو گرافت شوند، انجام شده است. در این مطالعه از ٤٥ سر خرگوش نر بالغ نیوزلندی ۸-٦ ماهه با وزن ۰/۵±۳ کیلوگرم که بطور تصادفی به ۳ گروه ۱۵تایی تقسیم شدند استفاده شده است. طی جراحی انجام شده بر روی استخوان ران هر خرگوش نقیصه‌ای بصورت دو طرفه و به قطر ٦ میلی‌متر ایجاد شد. درگروه اول (شاهد) از هیچ ماده‌ای استفاده نشد، در گروه دوم از نانوکامپوزیت هیدروکسی آپاتیت و در گروه سوم از نانو کامپوزیت تری کلسیم فسفات برای پر کردن نقیصه استفاده شد. نمونه‌های استخوانی طی روزهای ۱۵، ۳۰ و ٤٥ جهت ارزیابی‌های هیستوپاتولوژی برداشت شدند و برای ارزیابی از ٤ شاخص جوش خوردن، اسفنجی شدن، کورتکس و مغز استخوان استفاده شد. نتایج نشان داد که میزان التیام در گروه نانوکامپوزیت تری کلسیم فسفات در مقایسه با سایر گروه‌ها بصورت معنی‌داری بیشتر بوده است.

بنابر این با توجه به نتایج حاصل می‌توان اذعان نمود داربست استخوانی نانوکامپوزیت تری کلسیم فسفات تأثیر مثبتی بر روند التیام داشته و قدرت استخوان سازی مطلوبی دارد، بنابراین می‌تواند استفاده گسترده ای در جراحی های ارتوپدی و همچنین مهندسی بافت داشته باشد.

واژگان کلیدی: نانوکامپوزیت تری کلسیم فسفات، هیدروکسی آپاتیت، نقیصه استخوان ران، التیام استخوان، خرگوش.

تاریخ دریافت: ۱۳۹٦/۱۰/۱٦ تاریخ پذیرش: ۱۳۹٦/۱۲/۲٤

مقدمه

امروزه باتوجه به افزایش مداخلات جراحی و استفاده از شیوه‌های نوین در درمان ناهنجاری‌های اسکلتی در نقاط مختلف بدن انسان و یا حیوانات، استفاده از داربست‌های استخوانی جایگاه ویژه‌ای به خود اختصاص داده است. بطور مثال در جراحی‌هایی همچون اصلاح شکستگی‌های پیچیده و چند قطعه‌ای بر اثر ضربه، برداشت تومورهای استخوانی، اصلاح ناهنجاری‌های مادرزادی اسکلتی، تسریع روند التیام، آرترودزیس‌های ستون مهره و تعویض مفصل و دندانپزشکی نیاز به این داربست‌ها بیش از پیش افزایش پیدا می‌کند (۲).

در گذشته به منظور جایگزین نمودن قطعه استخوانی از دست رفته از روش‌های پیوند استخوان به اشکال مختلف استفاده می‌شد که در این میان از لحاظ بالینی بهترین نتایج حاصل استفاده از پیوند اتوگرافت می‌باشد که همچنان از محبوبیت بالایی برخوردار است. در این نوع پیوند با استفاده از جراحی مجزا تکه‌های استخوانی معمولا از استخوان ایلئوم به عنوان منبع پیوند برداشت می‌شود و در محل مورد نظر مورد استفاده قرار می‌گیرد. این روش معایب بسیاری دارد که شامل محدود بودن میزان ماده پیوندی، دردهای مزمن ناحیه اهدا کننده، آسیب‌های عصبی و حتی ایجاد عفونت در محل برش ایجاد شده می‌باشد (۱).

با توجه به این موارد و افزایش نیاز به مواد جایگزین شونده با بهره‌گیری از مهندسی بافت تحقیقات گسترده‌ای در جهت استفاده از داربست‌های استخوانی که بتوانند بصورت ایمن به رونـد التیام کمک کنند در حـال انجـام می‌باشد. در این راستا

۱- دانش آموخته دکتری تخصصی دامپزشکی، واحد علوم و تحقیقات، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران.

*۲- گروه جراحی دامپزشکی، واحد علوم و تحقیقات، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران

(dr.jahandideh@gmail.com)

۳-دانشکده علوم نوین پزشکی، تبریز، ایران.

٤-گروه پاتوبیولوژی، واحد علوم و تحقیقات، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران.

www.SID.ir

Archive of SID

تاکنون مواد طبیعی و صناعی مختلفی از جمله انواع فلزات، سرامیک‌ها و پلیمرها در محیط آزمایشگاهی و یا بدن موجودات زنده از لحاظ میزان تاثیر در کمک به بازسازی بافت استخوانی مورد ارزیابی قرار گرفته است (۷).

استفاده از مواد آلوپلاستیک به منظور پر کردن حفره‌های استخوانی ایجاد شده در اثر ضربه و یا برداشت تومور امروزه به شدت مورد توجه قرار گرفته است. زیست سازگاری، زیست فعال بودن، توانایی اتصال متقابل ساختارهای متخلخل، خواص مکانیکی مناسب و سرعت تخریب پذیری مناسب باید در طراحی یک داربست استخوانی موفق مورد توجه قرار گیرد. ایجاد یک ساختار متخلخل که بتواند از لحاظ ماکروسکوپی موجب رشد و مهاجرت سلول‌ها شود و از نظر میکروسکوپی توانایی تغذیه سلول‌ها و همچنین حذف سلول‌های مرده را داشته باشد همیشه به عنوان یک چالش اصلی مورد بحث بوده است (۱۶). از میان مواد مختلفی از انواع سرامیک‌ها، شیشه‌ها و پلیمرها که برای این منظور مورد استفاده آزمون قرار گرفته‌اند، تنها تعداد محدودی از آنها به عنوان گزینه مناسب به منظور ساخت داربست‌های استخوانی مورد توجه قرار گرفته‌اند (۵). سرامیک زیست فعال هیدروکسی آپاتیت که طی ۲۰ سال اخیر بطور گسترده‌ای مورد توجه قرار گرفته است، نمونه بسیار مناسب از این موارد محسوب می‌شود. قیمت ارزان، غیر سمی بودن، بازجذب ناچیز، قدرت تحمل در مقابل فشار قابل قبول و توانایی اتصال بسیار مناسب با بافت سخت از ویژگی‌های برجسته این ماده می‌باشد که آن را در ردیف بالای محبوب‌ترین ماده در تولید داربست‌های استخوانی قرار داده است (۹).

سرامیک کلسیم فسفات دارای زیست سازگاری و زیست تخریب‌پذیری عالی بوده و به خوبی به بافت استخوانی متصل شده و روند التیام را تسهیل می‌کند. سرامیک تری‌کلسیم فسفات در مقایسه با سایر مواد از قدرت هدایت استخوانی بیشتری برخوردار بوده و همچنین بخاطر قابلیت بازجذب مناسب می‌تواند به سرعت توسط ماتریکس استخوان جایگزین شود(۸).

امروزه با توجه به پیشرفت‌های صورت گرفته در تولید داربست‌ها با بهره‌گیری از روش‌های نوین مهندسی بافت، تولید داربست‌های استخوانی به شکل نانو ذرات محقق شده است. نانو مواد شامل: نانو ذرات، نانوکیلرها، نانوبلورها، نانوتیوب ها، نانوفایبرها، نانو سیم ها، نانوفیلم‌ها و... می‌باشند که با توجه به نیاز موجود با روش‌های متعددی می‌توان نانو ذرات صناعی متنوعی را در اشکال مختلف تولید نمود (۱۸). نانو مواد، مواد طبیعی و یا صناعی هستند که ابعاد آنها کمتر از ۱۰۰ نانومتر است. علاوه بر شباهت‌های ابعادی به بافت استخوان و بافت غضروفی همچنین نانو مواد دارای قدرت سطح منحصر به فردی نیز می‌باشند که می‌توان به وسیله آن حجم گسترده‌تری از پروتئین‌های ضروری به منظور ارتقاء تحریک رشد استخوانی در مقایسه با سایر داربست‌ها تولید نمود، که این امر به عنوان یکی از مکانیسم‌های زمینه‌ای بهره‌گیری از تکنولوژی نانو در ساخت داربست‌های استخوانی مطرح می‌باشد (۱۹).

در این مطالعه اثرات التیامی نانوکامپوزیت هیدروکسی آپاتیت در مقایسه با نانوکامپوزیت تری کلسیم فسفات بر روی نقیصه ایجاد شده در ران خرگوش از لحاظ آسیب‌شناسی مورد ارزیابی قرار گرفته است.

مواد و روش کار

حیوانات مورد استفاده

در این مطالعه از ٤٥ سر خرگوش سفید نیوزلندی نر، بالغ ٦–٨ ماهه با وزن تقریبی ۰/۵±۳ کیلوگرم که از موسسه رازی تهیه گردید، استفاده شد. حیوانات پس از انتقال و انجام معاینه دقیق بالینی به منظور تایید سلامت، تحت شرایط استاندارد (طوبت ٪۵±٦۰، دمای ۳± ۱۸ درجه سانتی‌گراد) به مدت یک هفته جهت عادی‌سازی محیطی بدون انجام هرگونه آزمایش نگهداری شدند. خرگوش‌های مورد مطالعه به شکل تصادفی به ۳ گروه ۱۵ تایی شامل: گروه کنترل (بدون دریافت هیچگونه داربست استخوانی)، گروه نانوکامپوزیت هیدروکسی آپاتیت

www.SID.ir

Archive of SID

(که از داربست استخوانی نانوکامپوزیت هیدروکسی آپاتیت استفاده شد) و گروه نانو تری‌کلسیم فسفات (که از داربست استخوانی نانو تری‌کلسیم فسفات استفاده شد) تقسیم‌بندی شدند.

روش انجام جراحی

حیوانات با تزریق عضلانی داروی بیهوشی کتامین ۱۰٪ ساخت شرکت آلفاسان (کتامین هیدروکلراید، ۵۰mg/kg)، رامپون ۲٪ ساخت شرکت آلفاسان (زایلازین 5mg/kg) بیهوش شدند. در ادامه اندام حرکتی خلفی سمت چپ حیوانات ابتدا با تیغه شماره ٤٠ موزنی شد و با استفاده از محلول‌های آنتی سپتیک عمل اسکراب موضع جراحی صورت پذیرفت. پس از شان گذاری موضع به روش چهارگوشه، برشی به طول تقریبی ۵ سانتی متر روی موضع ایجاد شد و با کندکاری عضلات ناحیه کنار زده شد تا استخوان ران نمایان سازی شود. با استفاده از دریل ارتوپدی دور پایین در قسمت بالایی استخوان ران نقیصه ای دو طرفه به قطر ٦ میلیمتر ایجاد شد. پس از شستشوی ناحیه با استفاده از سالین۰/۹٪ ، با توجه به گروه مورد مطالعه به منظور پر کردن نقیصه از داربست استخوانی خاص همان گروه استفاده گردید و در نهایت عضلات ناحیه با استفاده از نخ قابل جذب ۳-۰ و پوست نیز با استفاده از نخ غیر قابل جذب ۲-۰ بخیه شدند.

نقیصه ایجاد شده در گروه اول که به عنوان گروه شاهد در نظر گرفته شد بدون استفاده از هیچگونه ماده‌ای بسته شد، در گروه دوم که به عنوان گروه درمانی هیدروکسی آپاتیت در نظر گرفته شد محل نقیصه با استفاده از داربست استخوانی نانوکامپوزیت هیدروکسی آپاتیت کاملا پر شد ودر گروه سوم که به عنوان گروه درمانی نانوکامپوزیت تری کلسیم فسفات در نظر گرفته شد محل نقیصه با استفاده از داربست استخوانی نانوکامپوزیت تری کلسیم فسفات پر و بسته شد. پس از اتمام جراحی‌ها گروه‌های مورد مطالعه از یکدیگر با استفاده از رنگ‌های غیرسمی مخصوص جدا سازی شدند و مجددا به محل نگهداری خود برگردانده شدند. همچنین به منظور جلوگیری از وقوع عفونت‌های احتمالی پس از جراحی به مدت ۳ روز از آنتی بیوتیک (پنی سیلین جی پروکایین ٤٠٠٠٠ IU/kgعضلانی) استفاده شد. طی این مدت جهت کاهش درد همزمان تزریق ترامادول (۵mg/kg) نیز صورت پذیرفت.

کنترل روزانه خرگوش ها جهت ارزیابی وقوع هرگونه عفونت، التهاب و یا باز شدن احتمالی محل برش تا روز نمونه برداری انجام شد.

در روزهای ۱۵، ۳۰ و ٤٥ پس از جراحی از هرگروه ۵ خرگوش بصورت تصادفی جهت نمونه برداری با استفاده از شیوه مرگ آسان و بهره‌گیری از داروی تیوپنتال سدیم آسان‌کشی شدند. پس از راحت نمودن حیوانبرشی روی ران سمت چپ ایجاد کرده و استخوان ران را از موضع جدا کرده و داخل فرمالین ۱۰٪ جهت ارزیابی‌های هیستوپاتولوژی به آزمایشگاه مربوط ارسال گردید.

نمونه‌های برداشت شده جهت آماده‌سازی ابتدا با استفاده از فرمالین بافر ۱۰٪ ثابت شدند. در ادامه بوسیله روش رایج تهیه نمونه‌های بافتی، بلوک‌های پارافینی تهیه و مقاطع مورد نظر با استفاده از رنگ‌آمیزی هماتوکسیلین - ائوزین (H&E) رنگ‌آمیزی و توسط میکروسکوپ نوری مورد ارزیابی آسیب‌شناسی بافتی قرار گرفتند.

شاخص‌های مورد نظر از لحاظ هیستوپاتولوژی شامل شاخص جوش خوردن، اسفنجی شدن، کورتکس و مغز استخوان بودند که هر شاخص ٤ امتیاز و در مجموع ١٦ امتیاز برای هر گروه مورد مطالعه در هر یک از روزهای نمونه‌برداری داشت.

تجزیه و تحلیل آماری

داده‌های حاصل از نتایج هیستوپاتولوژی، تحت نرم‌افزار SPSS ویرایش ۲۲ و توسط آزمون کروسکال والیس و من‌ویتنی مورد تحلیل آماری قرار گرفتند. سطح معنی‌دار در این مطالعه ۰/۰۵ >p در نظر گرفته شد.

www.SID.ir

Archive of SID

نتایج

پارامترهای استخوان

تجزیه و تحلیل آماری پارامترهای استخوانی نشان می‌دهد که بیشترین امتیاز شاخص جوش خوردن در روز ۱۵ مربوط به گروه تری کلسیم فسفات (۱/۸۰) و کمترین میزان مربوط به گروه کنترل (۰/۲۰) است. همچنین بیشترین امتیاز شاخص جوش خوردن در روز ۳۰ مربوط به گروه تری کلسیم فسفات (۳/٤۰) و کمترین میزان مربوط به گروه کنترل (۱/٤۰) است. و بیشترین امتیاز شاخص جوش خوردن در روز ٤۵ مربوط به گروه تری کلسیم فسفات (۳/۸۰) و کمترین میزان مربوط به گروه کنترل (۲/٤۰) است. نانوکامپوزیت تری کلسیم فسفات و گروه کنترل به ترتیب بیشترین و کمترین مقدار را از لحاظ شاخص جوش خوردن در تمامی بازه‌های زمانی نشان دادند (جدول ۱).

جدول ۱ـ آماره‌های توصیفی (انحراف معیار ± میانگین) شاخص جوش خوردن

روز / گروه	۱۵	۳۰	٤۵
کنترل	a۰/۲۰ ± ۰/٤٤۷	a۱/٤۰ ± ۰/۵٤۷	a۲/٤۰ ± ۰/۵٤۷
هیدروکسی آپاتیت	b۱/٤۰ ± ۰/۵٤۷	b۲/٤۰ ± ۰/۵٤۷	b۳/٤۰ ± ۰/۵٤۷
تری کلسیم فسفات	c۱/۸۰ ± ۰/۸۳٦	c۳/٤۰ ± ۰/۵٤۷	c۳/۸۰ ± ۰/٤٤۷

آماره‌های توصیفی شاخص اسفنجی در جدول ۲ نشان داده شده است. بیشترین امتیاز شاخص اسفنجی در روز ۱۵ مربوط به گروه تری کلسیم فسفات (۲/۲۰) و کمترین میزان مربوط به گروه کنترل (۰/٦۰) است. همچنین بیشترین امتیاز شاخص اسفنجی در روز ۳۰ مربوط به گروه تری کلسیم فسفات (۳/٦۰) و کمترین میزان مربوط به گروه کنترل (۱/۲۰) است. و بیشترین امتیاز شاخص اسفنجی در روز ٤۵ مربوط به گروه تری کلسیم فسفات (۳/۸۰) و کمترین میزان مربوط به گروه کنترل (۲/۲۰) است (جدول ۲).

جدول ۲ـ آماره‌های توصیفی (انحراف معیار ± میانگین) شاخص اسفنجی

روز / گروه	۱۵	۳۰	٤۵
کنترل	a۰/۲۰ ± ۰/٤٤۷	a۱/۲۰ ± ۰/٤٤۷	a۲/۲۰ ± ۰/٤٤۷
هیدروکسی آپاتیت	b۰/٦۰ ± ۰/۵٤۷	b۲/٦۰ ± ۰/۵٤۷	b۳/٤۰ ± ۰/۵٤۷
تری کلسیم فسفات	c۱/٤۰ ± ۰/۵٤۷	c۳/٦۰ ± ۰/۵٤۷	c۳/۸۰ ± ۰/٤٤۷

در جدول شماره ۳ آماره‌های توصیفی شاخص کورتکس بیانگر این موضوع می‌باشد که بیشترین امتیاز شاخص کورتکس در روز ۱۵ مربوط به گروه تری کلسیم فسفات (۱/٤) و کمترین میزان مربوط به گروه کنترل (۰/۲۰) است. همچنین بیشترین امتیاز شاخص کورتکس در روز ۳۰ مربوط به گروه تری کلسیم فسفات(۲) و کمترین میزان مربوط به گروه کنترل (۱) است. و بیشترین امتیاز شاخص کورتکس در روز ٤۵ مربوط به گروه تری کلسیم فسفات (۳/۲) و کمترین میزان مربوط به گروه کنترل(۱/۸۰) است (جدول ۳).

www.SID.ir

Archive of SID

جدول ۳ـ آماره‌های توصیفی (انحراف معیار ± میانگین) شاخص کورتکس

گروه / روز	۱۵	۳۰	٤٥
کنترل	a۰/۲۰ ± ۰/٤٤۷	a۱/۲۰ ± ۷۰۷	a۱/۸۰ ± ۰/٤٤۷
هیدروکسی آپاتیت	b۱ ± ۰/۷۰۷	b۱/٤۰ ± ۰/٥٤۷	b۲/۲۰ ± ۰/۸۳٦
تری کلسیم فسفات	c۱/٤۰ ± ۰/٥٤۷	c۲/۲۰ ± ۰/٤٤۷	c۳/۲۰ ± ۰/۸۳٦

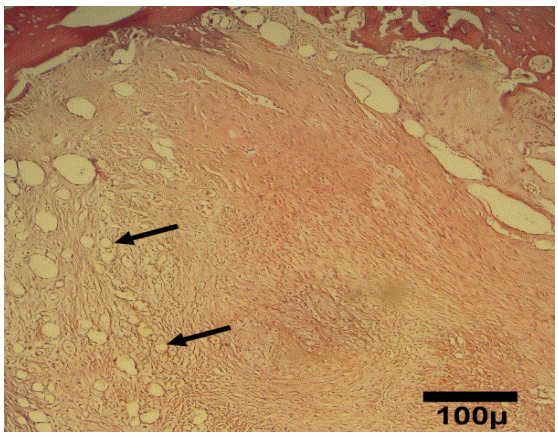
همانطور که در جدول ٤ مشخص است، بیشترین امتیاز شاخص مغز استخوان در روز ۱۵ مربوط به گروه تری کلسیم فسفات (۱/٤۰) و کمترین میزان مربوط به گروه کنترل(۰/۲۰) است. همچنین بیشترین امتیاز شاخص مغز استخوان در روز ۳۰ مربوط به گروه تری کلسیم فسفات (۲/٤۰) و کمترین میزان مربوط به گروه کنترل(۱) است. و بیشترین امتیاز شاخص مغز استخوان در روز ٤٥ مربوط به گروه تری کلسیم فسفات(۲/۸۰) و کمترین میزان مربوط به گروه کنترل(۱/٤۰) است (جدول ٤).

جدول ٤ـ آماره‌های توصیفی (انحراف معیار ± میانگین) شاخص مغز استخوان

گروه / روز	۱۵	۳۰	٤٥
کنترل	a۰/۲۰ ± ۰/٤٤۷	a۱/۲۰ ± ۰/٤٤۷	a۱/٦۰ ± ۰/٥٤۷
هیدروکسی آپاتیت	b۱ ± ۰/۷۰۷	b۱/٤۰ ± ۰/٥٤۷	b۲/٤۰ ± ۰/٥٤۷
تری کلسیم فسفات	c۱/٤۰ ± ۰/٥٤۷	c۲/۲۰ ± ۰/٤٤۷	c۳ ± ۰/۷۰۷

آسیب‌شناسی بافتی

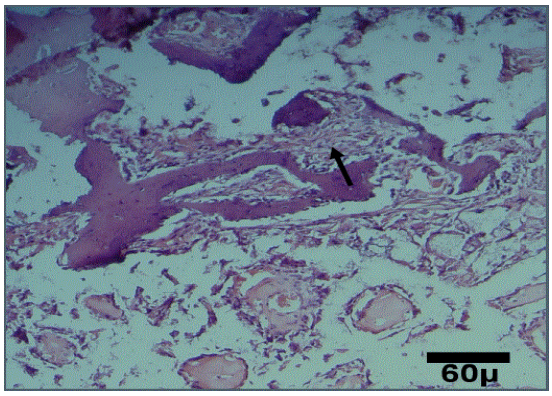
نتایج ارزیابی‌های هیستوپاتولوژی در نگاره‌های ۹-۱ مشاهده می‌شود. بر اساس نتایج بدست آمده در ارزیابی‌های هیستوپاتولوژی، ناحیه در حال التیام در گروه کنترل در روز ۱۵ حاوی جوانه‌های مویرگی فراوان در بافت گرانوله می‌باشد. همچنین بافت فیبروزه همراه با خون‌ریزی در ناحیه مورد التیام گروه هیدروکسی آپاتیت دیده می‌شود. ناحیه در حال التیام در گروه تری کلسیم فسفات حاوی غضروف کلسیفیکه فراوان می‌باشد. در نمونه‌های روز سی‌ام، در ناحیه در حال التیام در گروه کنترل بافت فیبروزه که فضای داخلی را پر کرده رویت می‌شود. غضروف کلسیفیکه شده در بافت گرانوله بالغ در گروه هیدروکسی آپاتیت دیده می‌شود. در گروه تری کلسیم فسفات استخوان‌های اولیه در حال تولید رویت می‌شوند. در روز چهل و پنجم، کالوس در حال التیام در ناحیه التیام گروه کنترل بیانگر شروع التیام اولیه می‌باشد. در گروه هیدروکسی آپاتیت نقیصه مورد مطالعه توسط استخوان‌های اولیه که به خوبی مغز استخوان را پر کرده‌اند دیده می‌شود. تشکیل استخوان لایه لایه ای در گروه تری کلسیم فسفات در همین روز بیانگر التیام بهتر در این گروه در مقایسه با سایر گروه‌ها می‌باشد.



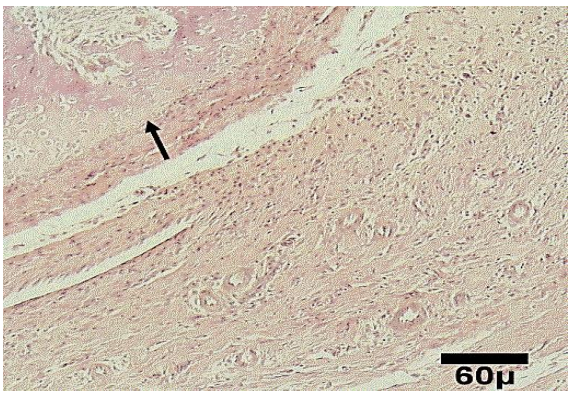
نگاره ۱ـ نمای ریزبینی از محل ترمیم نقیصه استخوانی در گروه درمانی شاهد در روز ۱۵. جوانه های مویرگی فراوان در بافت همبندی دیده می‌شود (H&E,100×).

www.SID.ir

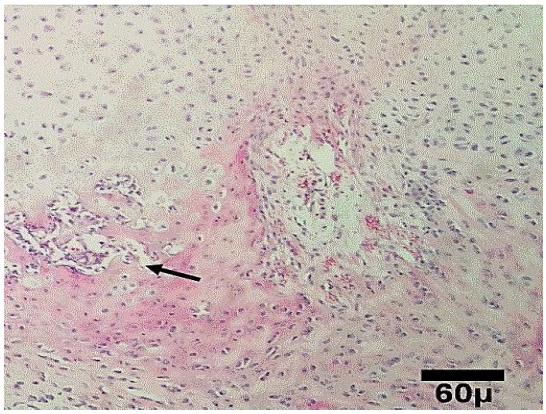
Archive of SID



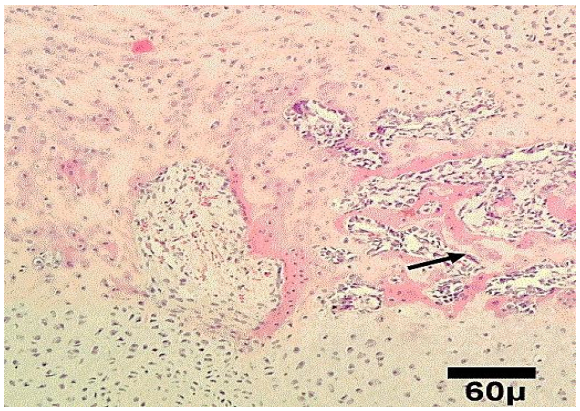
نگاره ۲ـ نمای ریزبینی از محل ترمیم نقیصه استخوانی در گروه درمانی هیدروکسی آپاتیت در روز ۱۵. بافت فیبروزه قابل رویت است (H&E,400×).



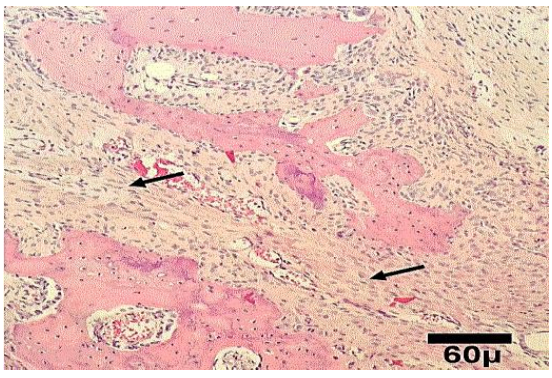
نگاره ۵ـ نمای ریزبینی از محل ترمیم نقیصه استخوانی در گروه درمانی هیدروکسی آپاتیت در روز ۳۰. غضروف کلسیفیکه در بافت گرانوله بالغ رویت می‌شود (H&E,400×).



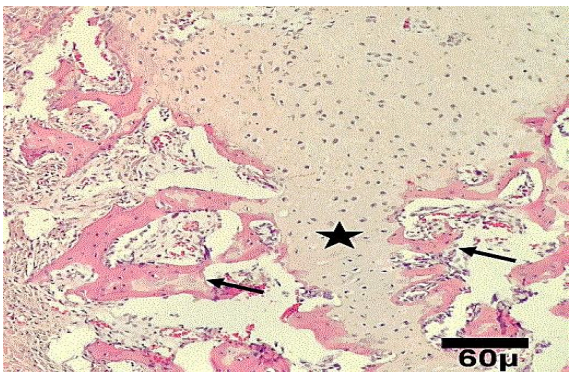
نگاره ۳ـ نمای ریزبینی از محل ترمیم نقیصه استخوانی در گروه درمانی تری کلسیم فسفات در روز ۱۵. غضروف کلسیفیکه فراوان قابل رویت است (H&E,400×).



نگاره ٦ـ نمای ریزبینی از محل ترمیم نقیصه استخوانی در گروه درمانی تری کلسیم فسفات در روز ۳۰. استخوان های اولیه در حال تولید می‌باشند (H&E,100×).



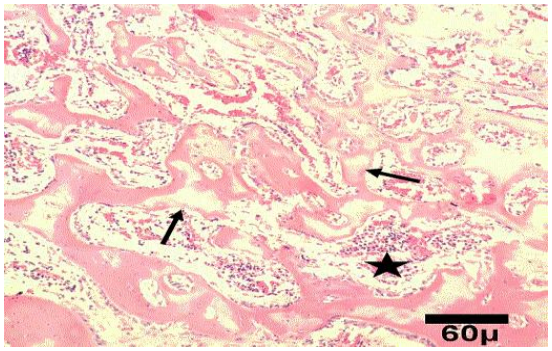
نگاره ٤ـ نمای ریزبینی از محل ترمیم نقیصه استخوانی در گروه درمانی شاهد در روز ۳۰. بافت فیبروزه فراوان که فضای مرکزی را پر کرده (H&E,100×).



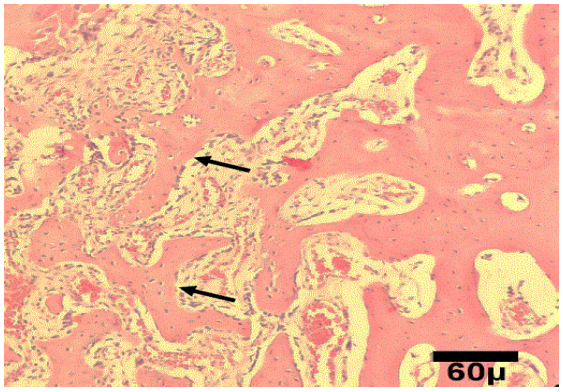
نگاره ۷ـ نمای ریزبینی از محل ترمیم نقیصه استخوانی در گروه درمانی شاهد در روز ٤٥. تغییر شکل غضروف به استخوان (ستاره) در ناحیه نشان دهنده استخوان سازی اولیه می‌باشد (H&E,400×).

www.SID.ir

Archive of SID



نگاره ۸ـ نمای ریزبینی از محل ترمیم نقیصه استخوانی در گروه درمانی هیدروکسی آپاتیت در روز ٤٥. نقیصه بوسیله استخوان های اولیه پر شده است (پیکان) و به خوبی مرکز را پر کرده است (ستاره) (H&E,400×).



نگاره ۹ـ نمای ریزبینی از محل ترمیم نقیصه استخوانی در گروه درمانی تری کلسیم فسفات در روز ٤٥. تشکیل استخوان‌های لایه لایه (پیکان) در ناحیه رویت می‌شود (H&E,400×).

بحث

با توجه به اینکه درمان نقیصه‌های استخوانی بزرگ یکی از اصلی‌ترین نگرانی‌ها در جراحی‌های ارتوپدی محسوب می‌شود؛ ازاین سو بسیاری از تحقیقات حاضر در جهت یافتن مواد یا داروهایی هست که بتواند قدرت التیامی مناسبی روی استخوان داشته باشد و به تسریع روند بازسازی استخوان کمک کند (۱۰). از لحاظ تاریخچه اولین تلاش‌ها در جهت استفاده از پیوند استخوان مربوط می شود به سال ١٦٦٨ که جراح آلمانی به نام جاب وان مکروون (۱۳) برای پیوند استخوان جمجمه سربازان از استخوان جمجمه سگ استفاده نمود. اما بطور کلی پیوند استخوان از سال ۱۹۱۵ وارد جراحی شد و اصول پیوند کردن پایه‌گذاری گردید. با توجه به مشکلات فراوانی که سایر روش‌های پیوند استخوان داشت، استفاده از داربست‌های استخوانی طی سال های اخیر گسترش چشمگیری داشته است که از این میان می‌توان به سرامیک زیستی هیدرو کسی آپاتیت اشاره نمود که استفاده گسترده ای طی ۲۰ سال اخیر داشته است. این ماده بسیار ارزان بوده، غیر سمی، حداقل باز جذب، مقاومت در برابر فشردگی قابل قبول داشته و اتصال مناسب به بافت سخت دارد (٦).

سرامیک‌های زیست فعال از جمله هیدروکسی آپاتیت و تری کلسیم فسفات و تعداد دیگری از شیشه‌های زیست فعال مدت زمان طولانی است که به عنوان داربست استخوانی به منظور ترمیم بافت استخوان مورد استفاده قرار می‌گیرند (۳). از آنجاییکه این داربست‌ها با بافت باند شده و قابلیت ارتقاء تشکیل بافت جدید را در زمان قرارگیری در کنار آن دارا می‌باشند، اصطلاح زیست فعال به آنها اطلاق می‌شود. همچنین در تحقیقات گسترده‌ای که بر روی این سرامیک‌ها انجام شده هدایت استخوانی و سازگاری بافتی بسیار بالای آنها موجب شده است تا به عنوان محبوب‌ترین سرامیک‌ها در بازسازی استخوانی مطرح و بطور گسترده‌ای مورد توجه قرار گیرند(۱۱). در مطالعه‌ای که Galois و همکاران در سال ۲۰۰۲ انجام دادند، از سرامیک بتا ـ تری کلسیم فسفات در ۱۱۰ بیمار مبتلا به تومورهای خوش خیم استخوان بازو استفاده نموده و نتایج آن را با ۱۱۰ بیمار دیگری که با استفاده از پیوند اتوگرافت درمان شده بودند مقایسه کردند (٤). نتایج بدست آمده از این مطالعه نشان داد که سرعت التیام در نقیصه ایجاد شده پس از برداشت توده و پر شده بوسیله تری کلسیم فسفات در ۷۵٪ موارد بطور معنی‌داری بهتر بوده و می‌توان از این سرامیک در نقیصه های استخوانی با ابعاد متوسط استفاده نمود. Matsumine و همکاران در سال ۲۰۰٤ میزان بازجذب سرامیک استخوانی کلسیم هیدروکسی‌آپاتیت را پس از گذشت میانگین ۱۱/٤سال از

www.SID.ir

Archive of SID

جراحی کاشت داربست به منظور پر کردن نقیصه ایجاد شده به دنبال برداشت تومور خوش خیم استخوان‌های بلند را درانسان ارزیابی نمودند (۱۲). طبق نتایج بدست آمده داربس هیدروکسی آپاتیت به خوبی داخل استخوان میزبان باقی مانده بود اما علائمی از بازجذب کامل آن بوسیله بیمار وجود نداشت. این موضوع نشان می‌دهد که این تاخیر در بازجذب می‌تواند مرحله بازسازی استخوانی را دچار اختلال کند. در صورتی که در تحقیقات دیگر که در مورد تری کلسیم فسفات صورت گرفته است، مشخص شده است که سرعت بازجذب این داربست بیشتر از هیدروکسی آپاتیت بوده و در نتیجه فرایند بازسازی در نقیصه پر شده با داربست استخوانی تری‌کلسیم فسفات به شکل بهتر و کامل‌تری انجام می‌گیرد(۱۷) همانطوری که در نتایج حاصل از مطالعه ما نیز سرعت التیام به ویژه در روز ٤٥ در گروه نانو تری کلسیم فسفات بطور معنی‌داری بیشتر از سایر گروه‌های مورد مطالعه بوده است.

Ogose و همکاران در سال ۲۰۰۲ در نمونه‌های استخوانی انسانی طی مدت زمان چهار هفته پس از جراحی مشاهده نمودند که خطوطی از سلول‌های استئوبلاست در اطراف تری کلسیم فسفات و استخوان تازه تشکیل شده مشاهده شده است و همچین مقادیر قابل توجهی از استئوکلاست‌ها نیز در کنار تری کلسیم فسفات یافت شده اند، که با توجه به نمونه پاتولوژی روز ۳۰ ام گروه TCP در مطالعه ما می‌توان اذعان نمود که نتایج بدست آمده بسیار مشابه می‌باشد (۱۵).

در مطالعه‌ای که موسوی و همکاران در سال ۲۰۱۳ انجام دادند از داربست استخوانی تری کلسیم فسفات به صورت جداگانه و همچنین در ترکیب با ماتریکس استخوانی ژلاتینه در التیام نقیصه ایجاد شده در استخوان زند زبرین خرگوش استفاده نمودند. نمونه‌ها در روز ٤٥ پس از جراحی جهت ارزیابی‌های آسیب‌شناسی به آزمایشگاه ارسال شد که نتایج حاصل از آن بیانگر این واقعیت بود که روند التیام در دو گروه درمانی که از تری کلسیم فسفات بصورت جداگانه و ترکیبی با ماتریکس استخوانی ژلاتینه استفاده شده بود، بطور معنی‌داری بهتر از گروه کنترل بود. همچنین از لحاظ هیستوپاتولوژی در نمونه گروه تری کلسیم فسفات در روز ٤٥ مشابه با تحقیق ما بافت استخوانی تازه در حال کلسیفیکه شدن قابل رویت بود که تقریبا نقیصه مورد نظر را پر کرده بود. با توجه به نتایج بدست آمده می‌توان اذعان نمود که داربست استخوانی تری کلسیم فسفات می‌تواند نقش بسزایی در تشکیل بافت استخوانی جدید در محل نقیصه ایفا کند (١٤). در سال ٢٠١٤ طبق مطالعه‌ای که Wang و همکاران انجام دادند، تاثیر مواد زیستی کلسیم فسفات با ساختار نانو و سلول‌های بنیادی را بر روند التیام استخوان مورد ارزیابی قرار دادند. نتایج بدست آمده حاکی از آن بود که مواد زیستی کلسیم فسفات در ابعاد نانو خود موجب تقویت عملکرد سلول‌های بنیادی در اتصال/ تزاید می‌شوند، همچنین ساختار نانو موجب ایجاد نتایج عملکردی بهتری در التیام استخوان نسبت به اشکال سنتی کلسیم فسفات می‌شود و همچنین چنانچه بصورت ترکیبی با سلول‌های بنیادی به عنوان داربست استخوانی مورد استفاده قرار گیرند تاثیرات بسیار بهتری در روند بازسازی و تشکیل استخوان‌های جدید خواهند داشت، بنابراین استفاده از تکنولوژی نانو در ساخت داربست‌های استخوانی پیشنهاد می‌شود (۲۰).

در نهایت و پس از مطالعات صورت گرفته و نتایج ارائه شده و همچنین بررسی آزمایشات و نتایج حاصل از تحقیقات محققان دیگر می‌توان به این دسته از نتایج مشابه رسید. همانطور که قبلا اشاره شد، هدف از انجام این تحقیق بررسی اثر التیامی داربست نانوکامپوزیت تری کلسیم فسفات در مقایسه با هیدروکسی آپاتیت بر روند التیام در نقیصه ایجاد شده بر روی استخوان ران خرگوش می‌باشد. با توجه به نتایج هیستوپاتولوژی موجود و تفسیر پاتولوژی آآن افزایش سرعت در القا، هدایت و استخوان‌سازی در گروه نانوکامپوزیت تری کلسیم فسفات در مقایسه با سایر گروه‌ها مشهود می‌باشد. افزایش قدرت تحریک استخوان‌سازی و همچنین نقش داربست بودن این نانو

www.SID.ir

Archive of SID

کامپوزیت به منظور ایجاد استحکام زم جهت مهاجرت سلول‌های استخوانی جهت ترمیم در نقیصه ایجاد شده به ویژه از روز ۱۵ به بعد پس از جراحی بسیار قابل توجه بوده و به طور معنی‌داری با سایر گروه‌ها اختلاف دارد.

بر اساس نتایج بدست آمده به نظر می‌رسد که نانوکامپوزیت تری کلسیم فسفات به لحاظ کمک به التیام استخوان می‌تواند در جراحی‌های ارتوپدی و همچنین مهندسی بافت مناسب باشد. همچنین با توجه به توانایی تولید آن در داخل کشور و کاهش هزینه‌های ناشی از واردات این داربست می‌تواند بسیار در دسترس بوده و از لحاظ اقتصادی نیز مقرون به صرفه باشد.

فهرست منابع

1. Bajammal, SS., Zlowodzki, M., Lelwica, A., Tornetta, P., Einhorn, TA., Buckley, R., Leighton, R., Russell, TA., Larsson, S., Bhandari, M. (2008): The Use of Calcium Phosphate Bone Cement in Fracture Treatment. J Bone Joint Surg Am. 90(6): 1186-1196.
2. Caulier, H., van der Waerden, J.P., Paquay, Y.C., Wolke, J.G., Kalk, W., Naert, I., Jansen, J.A. (1995): Effect of calcium phosphate (Ca-P) coatings on trabecular bone response: A histological study. J. Biomed. Mater. Res. 29: 1061–1069.
3. Daculsi, G., Passuti, N., Martin, S., Deudon, C., Legeros, RZ., Raher, S. (1990): Macroporous calcium phosphate ceramic for long bone surgery in humans and dogs. Clinical and histological study. J Biomed Mater Res. 24 (3): 379-396.
4. Galois, L., Mainard, D., Delagoutte, JP. (2002): Beta-tricalcium phosphate ceramic as a bone substitute in orthopaedic surgery. International Orthopaedics (SICOT). 26:109–115.
5. Hutmacher, D.W., Teoh, S.H., Zein, I., Ranawake, M., Lau, S. (2000): Tissue engineering research: The engineer's role. Med. Device Technol. 11: 33–39.
6. Larry, L. (1991): Bioceramics: From Concept to Clinic. J. Am. Ceram. Soc. 74 (7): 1487-1510.
7. LeGeros RZ. (2002). Properties of Osteoconductive Biomaterials: Calcium Phosphates. Clin.Orthop. Res. 395: 81-98.
8. Lichte, P., Pape, HC., Pufe, T., Kobbe, P., Fischer, H. (2011): Scaffolds for bone healing: Concepts, materials and evidence. Injury, Int. J. Care Injured. 42: 569–573.
9. Liu, Y.L., de Groot, K., Hunziker, E.B. (2009): Biomimetic mineral coatings in dental and orthopaedici mplantology. Front. Mater. Sci. China. 3: 154–162.
10. Li, XM., Van Blitterswijk CA., Feng, QL., Cui, FZ., Watari, F. (2008): The effect of calcium phosphate microstructure on bone-related cells in vitro. Biomaterials. 29 (23): 3306–3316.
11. Marcacci, M., Kon, E., Zaffagnini, S., Giardino, R., Rocca, M., Corsi, A., Benvenuti, A., Bianco, P., Quarto, R., Martin, I., Muraglia A., Cancedda, R. (1999): Reconstruction of extensive long-bone defects in sheep using porous hydroxyapatite sponges. Calcif Tissue Int. 64 (1): 83-90.
12. Matsumine, A., Myoui, A., Kusuzaki, K., Araki, N., Seto, M., Yoshikawa, H., Uchida, A. (2004): Calcium hydroxyapatite ceramic implants in bone tumour surgery, J.Bo.Jo.Su. 86 (5): 719-725.
13. Mitchel, SE., Keating, JF., Robinson, CM. (2010): The treatment of open femoral fractures with bone loss. J. Bone. Joint. Surg. Br. 92 (12): 1678–1684.
14. Mousavi, GH., Mohajeri, D., Rezaei, M., Aghapour, M., Maghsoudi, S. (2013): Repair of segmental bone defect using calcium phosphate granules and allogeneic bone matrix gelatin mixture in rabbits. I.R.J.A.B.S., 6 (2): 221-227.
15. Ogose, A., Hotta, T., Hatano, H., Kawashima, H., Tokunaga, K., Endo, N., Umezu, H. (2002): Histological examination of beta-tricalcium phosphate graft in human femur. J Biomed. Mater. Res. 63 (5): 601-604.
16. Olah, L., Borbas, L. (2008): Properties of calcium carbonate-containing composite scaffolds.Acta. Bioeng. Bio. 10(1): 61–6.
17. Tanaka, T., Chazono, M., Komaki, H. (2006): Clinical Application of Beta - Tricalcium Phosphate In Human Bone Defects. Jikeikai Med J. 53: 45-53.

www.SID.ir

Archive of SID

18. Venugopal, JR., Low, S., Choon, AT., Kuma, AB., Ramakrishna, S. (2008): Nanobioengineeredelectrospun composite nanofibers and osteo-blasts for bone regeneration. Artif. Organs. 32: 388–397.
19. Wahajuddin., Arora, S. (2012) Superparamagnetic iron oxide nanoparticles: magnetic nanoplatforms as drug carriers. Int. J. Nanomedicine. 7: 3445–3471.
20. Wang, P., Zhao L., Liu J., Weir, M D., Zhou, X., Xu, H K. (2014): Bone tissue engineering via nanostructured calcium phosphate biomaterials and stem cells. Bone. Rese. 2:1-14.

www.SID.ir