نشریه علوم درمانگاهی دامپزشکی ایران؛ ۱۳۹۸؛ ۱۳(۲): ۳۳-۴۱.

تأثیر PRP آلوگرافت و PRP زنوگرافت بر ترمیم استخوان در مدل حیوانی خرگوش

امین بیغم صادق[۱]، سیاوش شریفی[۲*]، موسی جاودانی[۳]، احمد عریان[۴]، محمد شادخواست[۵]، سیما منتظری بالا جاده[۶]

۱. استاد، گروه علوم درمانگاهی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه شهرکرد، شهرکرد- ایران.
۲. استادیار، گروه علوم درمانگاهی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه شهرکرد، شهرکرد- ایران.
۳. دانشیار، گروه علوم درمانگاهی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه شهرکرد، شهرکرد- ایران.
۴. استاد، گروه پاتوبیولوژی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه شیراز، شیراز- ایران.
۵. دانشیار، گروه علوم پایه، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه شهرکرد، شهرکرد- ایران.
۶. دانش آموخته دکترای حرفه‌ای دامپزشکی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه شهرکرد، شهرکرد- ایران.

دریافت: ۱۰ مردادماه ۹۷ **پذیرش:** ۴ خردادماه ۹۸

چکیده

آسیب‌های وسیع استخوانی ناشی از تصادف، تومور، استئومیلیت، شل شدن ادوات تثبیتی، یا استئوتومی‌های اصلاحی نیازمند مداخلات جراحی هستند؛ زیرا ترمیم خود به خودی فقط در آسیب‌های کوچک و محدود انجام می‌گیرد. پیوند استخوان خودی هنوز به عنوان یک استاندارد طلایی در پیوند به‌شمار می‌آید. عوامل القا کننده استخوان‌سازی بسیاری موجود است که برخی از آن‌ها عبارتند از: فاکتورهای رشد مشتق از پلاکت، عامل رشد عروقی و عامل رشد و تمایز دهنده‌ی سلولی، تزاید دهنده‌ی سلول‌ها و فیبروبلاست‌ها. معمولاً در تزریق پلاکتی مقدار تخریب بافتی کاهش می‌یابد. هدف از انجام این پژوهش مقایسه تأثیر پلاسمای غنی از پلاکت بین گونه‌ای در التیام شکستگی تجربی در خرگوش است. در مطالعه حاضر از چهار گروه خرگوش (۲۰ رأس هر گروه ۵ رأس) استفاده گردید. خرگوش‌ها با کتامین (۳۰ mg/kg) و آسه پرومازین(۰/۲ mg/kg) با تزریق عضلانی بی‌هوش شدند و دست راست آن‌ها تراشیده و آماده برای انجام جراحی شد. برش پوست در سطح قدامی-داخلی روی استخوان رادیوس ایجاد شد و با کنار زدن بافت‌های نرم و عضلات، استخوان رادیوس در معرض دید قرار گرفت. قطعه‌ای از استخوان به اندازه‌ی دو برابر عرض آن (تقریباً ۱۰ میلی‌متر) با اره استخوان بری برداشته شد. به گروه شاهد که دچار نقیصه‌ی استخوانی بود هیچ ماده‌ای پیوند زده نشد (۵ خرگوش) و در گروه اتولوگرافت (۵ خرگوش) که در محل نقیصه، از استخوان خودی استفاده شد. در گروه زنوگرافت (۵ خرگوش) که در آن از PRP گاوی استفاده شد و در گروه آلوگرافت (۵ خرگوش) کهPRP خرگوش در آن استفاده شد، تزریق به این ۴ گروه در روزهای ۳، ۵ و ۷ صورت گرفت و ارزیابی رادیوگرافی هر دو هفته تا ۸ هفته و هیستوپاتولوژی در هفته هشتم صورت گرفت. نتایج مطالعه حاضر نشان داد که استفاده ازPRP در نقیصه استخوانی خرگوش در التیام شکستگی کارآمد است و این مسأله با PRP گاوی (زنولوگ) بیشتر نمود داشت.

واژه‌های کلیدی: خرگوش،PRP خرگوش، PRP گاو، ترمیم استخوان.

مقدمه

آسیب‌های وسیع استخوانی ناشی از تصادف، تومور، استئومیلیت، شل شدن ادوات تثبیتی، یا استئوتومی‌های اصلاحی نیازمند مداخلات جراحی هستند؛ زیرا ترمیم خود به خودی فقط در آسیب‌های کوچک و محدود انجام می‌گیرد. پیوند استخوان خودی هنوز به عنوان یک استاندارد طلایی در پیوند به شمار می‌آید؛ ولی محدودیت‌هایی مثل درگیری و ابتلای محل برداشت و مقدار برداشت از مشکلات به کار بردن این نوع از پیوند است (۱ و ۲). امروزه استفاده از تکنیک‌هایی مثل پیوند

www.SID.ir

* پست الکترونیک نویسنده‌ی مسؤول: drsharifisiavash94@gmail.com

خودی، غیر خودی (آلوگرافت) (۳، ۴ و ۵) و جایگزین‌های مواد معدنی استخوانی بسیار رایج شده است، ولی این تکنیک‌ها هم محدودیت‌های خاصی مثل مشکلات بیولوژیکی و بیومکانیکی خود را دارند (۱ و ۶)، بنابراین استفاده از مواد القا کننده استخوان‌سازی و هدایت کننده‌های استخوان‌سازی به شکل هم‌زمان بیشتر مورد توجه است. استفاده از ماتریکس دمینرالیزه شده استخوان و فاکتورهای رشد به شکل هم‌زمان به منظور تحریک استخوان‌سازی از آن جمله هستند (۷). فاکتورهای رشد مختلفی در پلاسمای غنی از پلاکت انسانی موجودند که عبارتند از: فاکتور رشد مشتق از پلاکت، فاکتور رشد اندوتلیال عروق، فاکتور رشد تغییر شکل دهنده‌ی بتا و فاکتور رشد شبه انسولینی. عامل اصلی ترمیم کننده در ترمیم استخوان شدت ترومای اولیه و مقدار آسیب نسج نرم است. هرچه آسیب نسج بیشتر شود خون‌رسانی استخوان کمتر و ایجاد عوارض بیشتر می‌شود و در نتیجه جوش نخوردن استخوان اتفاق می‌افتد (۸). ترمیم آهسته استخوان، رباط، تاندون و بافت‌های نرم بعد از جراحت به دلیل خون‌رسانی ضعیف به این اندام‌ها، یک پدیده‌ی شایع در اغلب بیماران است (۹). از بین هزاران عامل رشد می‌توان به عوامل رشد مشتق از پلاکت، عامل رشد عروقی و عامل رشد و تمایز دهنده اشاره کرد که بعد از ترشح موجب رشد و تکثیر سلول‌های پیش‌ساز و همچنین فیبروبلاست‌های موضع می‌شود. اگر در موضعی به دلیل کاهش جریان خون تعداد این سلول‌ها کم باشد و یا عوامل رشد آزادشده برای ترمیم کافی نباشد، می‌توان با تزریق پلاکت و یا محتوای آن‌ها، روند ترمیم را افزایش داد. هدف از تزریق پلاسمای غنی از پلاکت درعضو آسیب دیده کاهش میزان تخریب در بافت مورد نظر است (۱۰). فاکتورهای رشد پلاکتی مواد فعال بیولوژیکی هستند که مکانیسم ترمیم بافت مانند کموتاکسی پرولیفراسیون سلولی آنژیوژنز و رسوب ماتریکس خارج سلولی را سرعت می‌بخشند. در محل آسیب بافتی، پلاکت‌ها مواد میتوژن و التهابی از خود آزاد می‌سازند که تمام جنبه‌های ترمیم بافتی را در بر می‌گیرند مواد آزاد شده پلاکتی به صورت وسیعی برای درمان موضعی انواع امور بالینی شامل زخم‌ها و ضایعات بافت نرم مورد پژوهش قرار گرفته‌اند (۱۱). از پلاسمای غنی از پلاکت می‌توان اتولوگ یا همولوگ تهیه کرد و تهیه آن آسان و کم هزینه است (۱۲).

در این پژوهش- با توجه به اثرات و پژوهش‌های ضد و نقیض PRP زنوگرافت، اتوگرافت و آلوگرافت- سعی شده به بررسی دقیق عمل‌کرد این مهم در روند ترمیم استخوان در مدل خرگوشی توجه شود.

مواد و روش کار

به منظور تهیه پلاسمای غنی از پلاکت، ابتدا خون‌گیری از گاو به منظور تهیه پلاسمای غنی از پلاکت زنوژنیک و از خرگوش‌های تحت پژوهش به منظور تهیه پلاسما غنی از پلاکت آلوژنیک انجام شد. از قلب هر کدام از خرگوش‌ها بسته به وزن آن‌ها، ۲ تا ۳ میلی‌لیتر خون اخذ شد، سپس از نمونه‌های اخذ شده، نمونه خون سیتراته تهیه شد. نمونه‌های خون با دور g ×۲۲۰ به مدت ۲۰ دقیقه سانتریفیوژ شد. مایع رویی حاوی پلاسمای غنی از پلاکت بود که مجدداً به منظور جداسازی پلاکت‌ها با دور g ×۴۸۰ به مدت ۲۰ دقیقه سانتریفیوژ شدند. مایع رویی جدا شد که از نظر تراکم سلولی حاوی $۸/۳\times۱۰^{۹}$ پلاکت بود.

پژوهش حاضر روی ۲۰ خرگوش در چهار گروه (هر گروه ۵ رأس) انجام شد. به گروه شاهد که دچار نقیصه‌ی استخوانی بود هیچ ماده‌ای پیوند زده نشد و در گروه اتولوگرافت (۵ خرگوش) در محل نقیصه از استخوان خودی استفاده شد. در گروه زنوگرافت از PRP گاوی و در گروه آلوگرافت از PRP خرگوش استفاده شد. تزریق به این ۴ گروه در روزهای ۳، و ۷ صورت گرفت و ارزیابی رادیوگرافی هر دو هفته تا ۸ هفته و هیستوپاتولوژی در هفته هشتم صورت گرفت.

www.SID.ir
نشریه علوم دامپزشکی ایران

به منظور ایجاد نقیصه، خرگوش‌ها با کتامین (۳۰ mg/kg) و آسه پرومازین (۰/۲ mg/kg) با تزریق عضلانی بی‌هوش شدند و دست راست آن‌ها تراشیده شده و برای جراحی آماده‌سازی شد. برش پوست در سطح قدامی-داخلی روی استخوان رادیوس ایجاد شد و با کنار زدن بافت‌های نرم و عضلات، استخوان رادیوس در معرض دید قرار گرفت. قطعه‌ای از استخوان به اندازه‌ی دو برابر عرض آن (تقریباً ۱۰ میلی‌متر) برداشته شد و بعد از برش، عضلات بخیه شد و پوست به شکل زیر جلدی و با نخ ویکریل دو صفر بخیه گردید. خرگوش‌ها پس از برگشت از بی‌هوشی، در قفس - البته بدون تثبیت خارجی اندام مورد جراحی- رها شدند. تمامی خرگوش‌ها روزانه یک بار پس از جراحی پنی‌سیلین با دوز ۴۰/۰۰۰ واحد بین‌المللی و استرپتومایسین ۱۲ میلی‌گرم بر کیلوگرم به فرم تزریق عضلانی به مدت ۳ روز دریافت کردند. تمامی خرگوش‌ها به مدت سه روز داروی ضد التهاب غیراستروئیدی فلونگسین مگلوآمین برای کاهش درد و التهاب بعد از عمل، دریافت کردند.

ارزیابی‌ها در سه سطح بالینی، رادیوگرافی و هیستولوژی صورت گرفت.

در ارزیابی بالینی، هر روز خرگوش‌ها بررسی می‌شدند و از نحوه‌ی استفاده از دست، وزن‌گذاری روی عضو جراحی شده اطلاع کسب می‌شد و هر گونه زخم‌های موضعی، التهاب و یا عدم ترمیم مورد توجه قرار می‌گرفت.

در ارزیابی رادیوگرافیکی، رادیوگراف‌ها با نمای جانبی از دست خرگوش‌ها بعد از جراحی و در روزهای ۱۴، ۲۸، ۴۲ و ۵۶ تهیه شد. فاصله فیلم از منبع اشعه X حدود ۷۰ سانتی‌متر و دستگاه رادیوگرافی با ۴۵ کیلو ولت (KV) و۲۰ میلی‌آمپر بر ثانیه (mAs) تنظیم شده بود. برای ارزیابی و درجه بندی رادیوگراف‌های تهیه شده، از سیستم درجه بندی تغییر شکل یافته Lane و Sandhu استفاده شد (۱۳).

در ارزیابی هیستوپاتولوژیکی، هشت هفته بعد از عمل جراحی خرگوش‌ها به روش انسانی با دوز بالای داروی بی‌هوشی کتامین معدوم شدند. نمونه‌برداری برای بررسی هیستوپاتولوژیکی از اندام حرکتی جراحی شده و از محل نقیصه انجام گرفت. نمونه‌ها در فرمالین ۱۰ ٪ قرار داده شدند و در اسید فرمیک دمینرالیزه شده و در قالب‌های پارافینی قرار گرفتند. با برش ۵ میکرونی و رنگ‌آمیزی هماتوکسین- ائوزین لام هیستوپاتولوژی تهیه گردید. در ارزیابی هیستوپاتولوژیکی از روش اسکوربندی التیام استخوان امری استفاده شد (۹).

به منظور تجزیه و تحلیل آماری، ابتدا نتایج به دست آمده با آزمون آماری Kruskal-Wallis non parametric ANOVA تجزیه و تحلیل آماری شدند؛ چنانچه ارزش P کمتر از ۰/۰۵ می‌شد، دوباره با آزمون آماری Mann-Whitney Utest تجزیه و تحلیل آماری می‌شدند. در این آزمون P<۰/۰۵ از نظر آماری معنی‌دار تلقی می‌شد. برای انجام تست‌های آماری از نرم‌افزار SPSS نسخه ۱۹ استفاده شد.

نتایج

تمامی خرگوش‌ها بعد از انجام عمل جراحی و بازگشت از بی‌هوشی بسیار آرام بودند. در ناحیه‌ی جراحی تورم و التهاب و در حین وزن گذاری، اندکی لنگش مشاهده شد. لنگش خرگوش‌ها تا روز چهار بعد به کلی رفع شد و تا روز پنجم نیز التهاب و تورم در موضع عمل به کلی برطرف گردید، همچنین هیچ‌گونه عفونت موضعی در هیچ‌کدام از خرگوش‌ها دیده نشد.

ارزیابی رادیوگرافیکی روند التیام در گروه‌های مختلف در روزهای ۱۴، ۲۸ و ۴۲ و ۵۶ انجام شد.

۵۶ روز بعد از عمل در ارزیابی هیستوپاتولوژی هیچ‌گونه نشانه‌ای از التهاب و عفونت در هیچ‌کدام از خرگوش‌ها مشاهده نشد (جدول ۲ و شکل‌های ۵ الی ۸).

www.SID.ir
نشریه علوم درمانگاهی دامپزشکی ایران

جدول ۱- نتایج به دست آمده از ارزیابی رادیوگرافیک

(حداکثر- حداقل) میانه

روزهای بعد از عمل	کنترل منفی	کنترل اتوگراف	PRP زنوگرافت	PRP الوگرافت	p [a]
۱۴	۰(۰-۱)	۵(۱-۵) [b]	۱(۰-۷)	۱(۱-۰)	۰/۱
۲۸	۱(۱-۶)	۵(۵-۹)	۱(۱-۱۰)	۱(۱-۸)	۰/۱
۴۲	۱(۱-۶)	۵(۵-۱۰) [c]	۷(۱-۱۰)	۴(۱-۴)	۰/۱
۵۶	۴(۱-۹)	۱۰(۹-۱۰) [d]	۳(۲-۱۰)	۵(۱-۸)	۰/۰۲

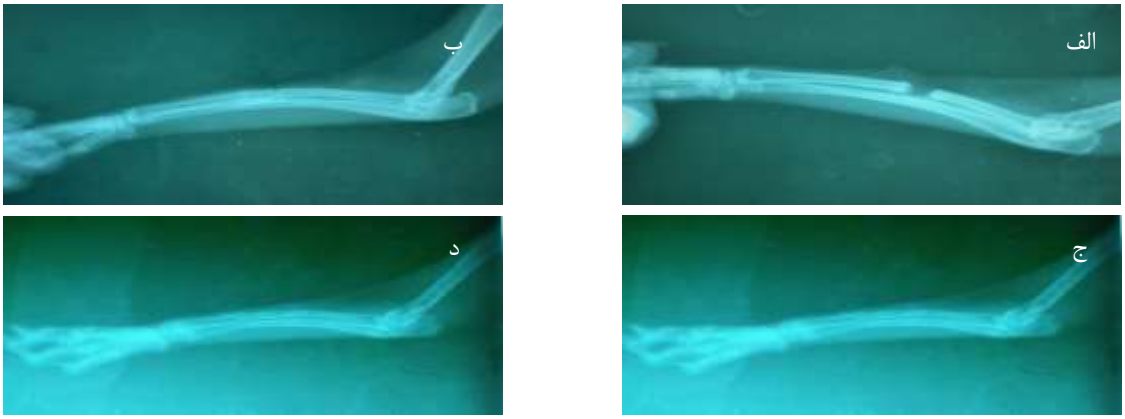
[a] Kruskal- Wallis non parametric ANOVA
[b] P=0.02 (compared Auto Graft& Empty group by Mann- Whitney U test)
[b] P=0.04 (compared Auto Graft& Alo Graft by Mann- Whitney U test)
[c] P=0.005 (compared Auto Graft & Alo Graft-by Mann- Whitney U test)
[d] P=0.009 (compared Auto Graft & Empty group by Mann- Whitney U test)
[d] P=0.007 (compared Auto Graft & Alo Graft- group by Mann- Whitney U test)

در روز ۱۴ گروه اتوگراف نسبت به گروه کنترل منفی (شاهد) (P=۰/۰۲) به شکل معنی‌داری بهترعمل‌کرد و حتی نسبت به گروه آلوگرافت (p=۰/۰۴) عمل‌کرد بهتری داشته است. در روز ۴۲ گروه اتوگرافت نسبت به گروه آلوگرافت از دید آماری، بهتر عمل کرده است (P=۰/۰۵). در روز ۴۲ گروه اتوگرافت از گروه شاهد بهتر عمل کرده‌است. در روز ۵۶ گروه اتوگرافت نسبت به گروه شاهد و نسبت به گروه آلوگرافت (P=۰/۰۰۷) بهتر عمل کرده است. به‌طور کلی گروه زنوگرافت نسبت به گروه آلوگرافت عمل‌کرد بهتری داشته‌است و با سایر گروه‌های مورد مقایسه، اختلاف معنی داری نداشته است (جدول ۱ و شکل‌های ۱ الی ۴).

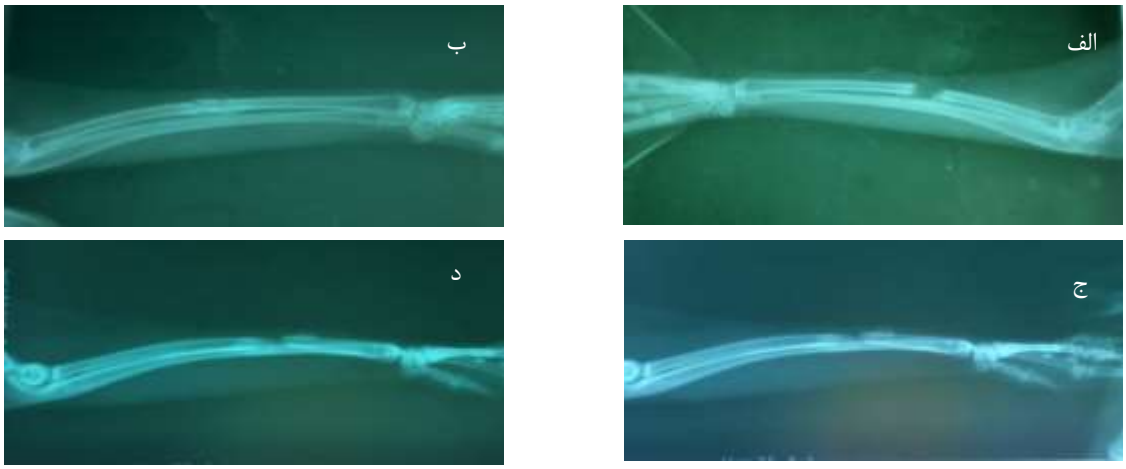
شکل ۱- رادیوگراف از موضع عمل هفته دوم: الف) گروه شاهد ب) گروه اتوگرافت ج)گروه آلوگرافت د) گروه زنوگرافت

شکل ۲- رادیوگراف از موضع عمل هفته چهارم: الف) گروه شاهد ب) گروه اتوگرافت ج) گروه آلوگرافت د) گروه زنوگرافت

www.SID.ir
نشریه علوم دامپزشکی ایران



شکل ۳- رادیوگراف از موضع عمل هفته ششم: الف)گروه شاهد ب) گروه اتوگرافت ج) گروه آلوگرافت د) گروه زنوگرافت



شکل ۴- رادیوگراف از موضع عمل هفته هشتم: الف) گروه شاهد ب)گروه اتوگرافت ج) گروه آلوگرافت د) گروه زنوگرافت

جدول ۲- ارزیابی نتایج هیستوپاتولوژی (حداکثر- حداقل) میانه

گروه شاهد	اتوگرافت	PRP خرگوش (آلوگرافت)	PRP گاو (زنوگرافت)	p [a]
۱(۰-۳)	۶(۲-۶)[b]	۱(۱-۶)	۲(۲-۷)	۰/۰۵

گروه اتوگرافت نسبت به گروه شاهد اختلاف معنی‌داری داشته است و بهتر عمل کرده است. P=۰/۰۴

[a] مقدار ارزشی P برای تست Kraslcal-Wallis است. در صورتی که تست مذکور P<۰/۰۵ گردد، تست Mann-Withney انجام گرفته شد.

بحث

در این پژوهش گروه اتوگرافت از نظر آماری و سرعت ترمیم بهترین گروه بود و از تمامی گروه‌ها بهترعمل کرده بود. پیوند استخوانی اتوگرافت به عنوان پیوند طلایی مطرح است (۹). در پژوهش‌ها به عنوان گروه کنترل مثبت از اتوگرافت استفاده می‌شود که در پژوهش حاضر نیز به عنوان گروه کنترل مثبت، عمل‌کرد مطلوبی داشت.

در سال ۲۰۰۰ پژوهشی را Tuominen و همکاران به انجام رساندند. در این پژوهش اثرات زنوگرافت تهیه شده از استخوان گوساله در نقیصه نازک نی سگ استفاده شد و نتایج مشابهی از اتوگرافت به دست آمد (۱۴). در پژوهش حاضر گروه زنوگرافت تقریبا مانند گروه اتوگرافت عمل کرده بود و از گروه شاهد نیز بهتر بود که می‌توان عمل‌کرد بهتر آن را به دلیل وجود پروتیین‌های آزاد شده

www.SID.ir
نشریه علوم و فناوری پزشکی ایران

از PRP دانست.

در سال ۲۰۰۴، Arpornmaeklong و همکاران به بررسی تأثیر PRP بر توانایی تمایز استوژنیک سلول‌های مزانشیمی در موش صحرایی پرداختند. نتایج نشان داد که PRP به صورت وابسته به دوز، سبب افزایش فعالیت تکثیری سلول‌های مزانشیمی می‌شود (۱۵). در پژوهش حاضر می‌توان نقش افزایش ترمیم استخوانی در محل نقیصه را به حضور PRP نسبت داد. همچنین Kilian و همکاران (۲۰۰۴) به بررسی اثرات عوامل رشد پلاکتی روی سلول‌های مزانشیمی و اندوتلیالی انسان در محیط کشت پرداختند. در این پژوهش، بعد از دگرانولاسیون پلاکتی با استفاده از ترومبین و کلسیم، عوامل رشد پلاکتی آزاد شده به محیط کشت سلول‌های مزانشیمی و اندوتلیالی افزوده شد. این امر سبب افزایش تکثیر و مهاجرت سلول‌های اندوتلیالی گردید و توانایی استوژنزیز سلول‌های مزانشیمی در حضور این فاکتورها افزایش یافت (۱۶).

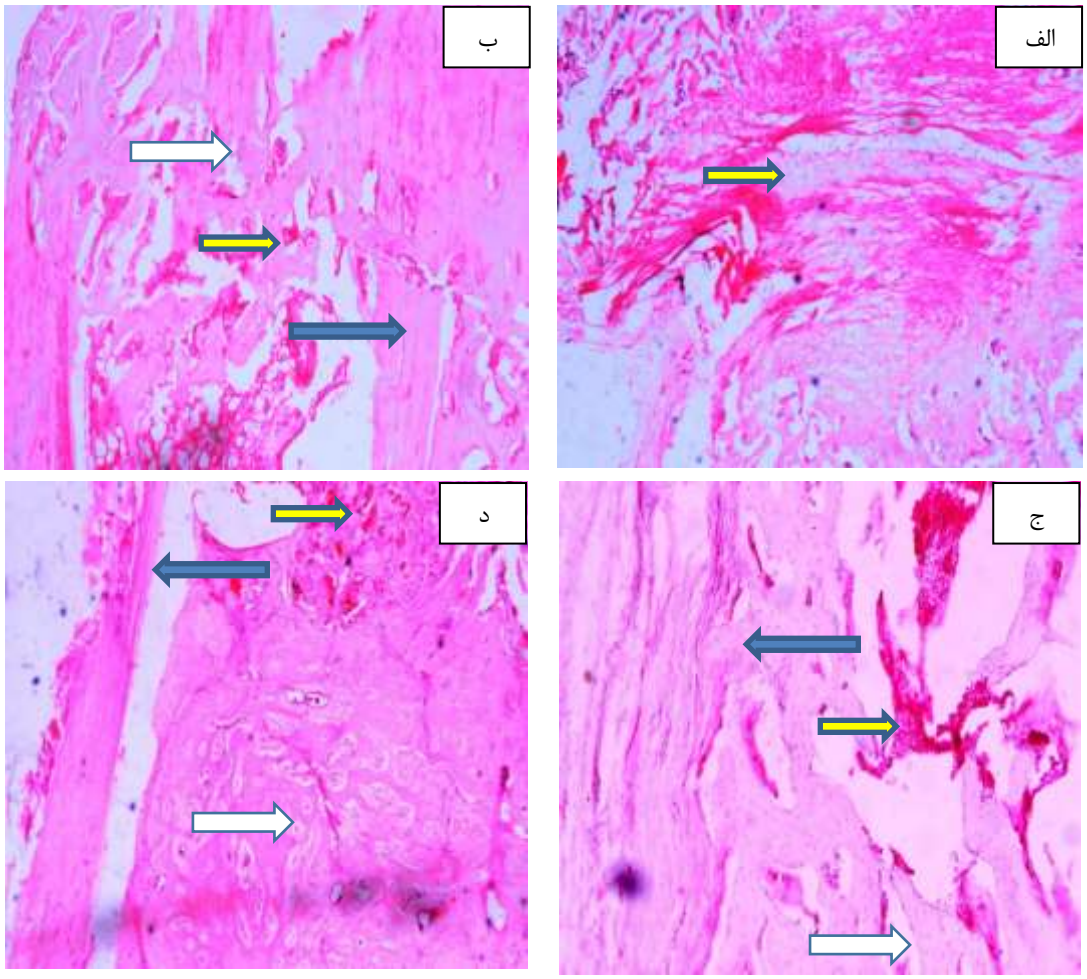
Graziani و همکاران (۲۰۰۶) دریافتند که غلظت‌های مطلوب PRP سبب افزایش سلول‌های فیبروبلاست و استئوبلاست در محیط‌های آزمایشگاهی می‌شود (۱۷)که این مسأله هم‌سو با پژوهش حاضر است.

Kasten و همکاران (۲۰۰۸) با پژوهش روی ترمیم استخوان و با اضافه کردن PRP اتولوگ و CDHA دریافتند که افزودن پلاسمای غنی از پلاکت اتوژن در مدل خرگوش سبب افزایش روند بهبود استخوانی می‌شود و این نتیجه به طور کامل با پژوهش ما هم‌سویی دارد (۱۸)؛ البته از دلایل عمل‌کرد آن می‌توان وجود فاکتورهای رشد آزاد شده از آن را دانست. آغازعمل‌کرد فاکتورهای رشد PRP به گونه‌ای است که با تحریک پلاکت‌ها توسط ترومبین و کلسیم، فاکتورهای رشد آزاد می‌شوند. اهم این فاکتورها شامل فاکتور رشد مشتق از پلاکت (Platelet-Derived Growth Factors-PDGF)، فاکتور رشد ترانسفورمینگ (Transforming Growth Factors-B-TGFB) فاکتور رشد اپی تلیال (Epithelial Growth Factor- EGF)، فاکتور رشد اندوتلیال عروقی (Vascular Endothelial Growth Factor-VEGF)، فاکتور رشد فیبروبلاست (Fibroblast Growth Factor –FGF) و فاکتور رشد شبه انسولین (Insulin Like Growth Factor-IGF) هستند که موجب فراخوانی سلول‌های تمایز نیافته به محل التهاب و آغاز تقسیم سلولی می‌شوند (۱۹). علاوه بر این، پلاکت‌ها حاوی پروتئیناز هستند که در آزادسازی آنزیم‌های پروتئولیتیک توسط سایر سلول‌ها نقش دارند. این آنزیم‌ها در تجزیه غشای پایه و ماتریکس خارج سلولی موثر هستند. پلاکت‌ها همچنین در مهار آزاد سازی سیتوکاین‌ها توسط ماکروفاژها نقش دارند. مدل‌های مختلف آزمایشگاهی نشان دادند که سلول‌های درگیر در ترمیم بافتی به نوعی به فاکتورهای رشد پلاکتی حساس هستند، بدین صورت که TGB-B موجب کموتاکسی نوتروفیل‌ها و مونوسیت‌ها، PDGF موجب مهاجرت و تکثیر فیبروبلاست‌ها به محل زخم و VEGF نفوذپذیری عروقی را افزایش می‌دهد.IGF در التیام زخم و در تکثیر و تمایز استئوبلاست‌ها و EGF در تکثیر سلول‌های اپی تلیال نقش دارند (۲۰)، پلاکت‌ها همچنین در مکانیسم‌های دفاعی میزبان در ناحیه زخم از طریق فراهم آوردن پپتیدهای سیگنال دهنده که ماکروفاژها را به ناحیه می‌اورند، نقش مهمی ایفا می‌کنند (۲۱)؛ علاوه بر این پلاکت تغلیظ شده حاوی مقادیری هرچند اندک از لکوسیت‌هاست که در سنتز اینترلوکین‌های درگیر در پاسخ ایمنی غیراختصاصی نقش دارند (۲۲). گرانول‌های پلاکتی نه تنها حاوی فاکتورهای رشد هستند بلکه مواد فعال بیولوژیک دیگر نظیر سروتونین کاتکول‌امین‌ها و پروتئین‌های انتی‌باکتریال نیز در آن‌ها وجود دارد. تست میکروبیولوژیک نشان دهنده‌ی فعالیت این‌پپتیدها علیه میکروارگانیسم‌های *اشریشیا کلی*، *استافیلوکوکوس اورئوس*، *کاندیدا آلبیکنس*، *کریپتوکوکوس نئوفورمانس* و

www.SID.ir
نشریه علوم دامپزشکی ایران

پسودوموناس است (۲۳).

نتایج مطالعه حاضر نشان داد که استفاده از PRP در نقیصه استخوانی خرگوش در التیام شکستگی کارآمد است و این مسأله با استفاده از PRP گاوی (زنولوگ) بیشتر نمود داشت.



شکل ۵- یافته‌های هیستوپاتولوژیک . الف) گروه شاهد: تشکیل بافت فیبروکارتیلاژ در محل نقیصه استخوانی ب) گروه اتوگرافت: جوش خوردگی محل نقیصه با استخوان متراکم (پیکان آبی رنگ) و تشکیل تیغه‌های استخوانی (پیکان سفید رنگ) در محل نقیصه همراه با ظهور مغز استخوان قرمز(پیکان زرد رنگ) در کمتر از نیمی از محل نقیصه **ج)** گروه آلوگرافت: جوش‌خوردگی محل نقیصه با استخوان متراکم (پیکان آبی رنگ) و تشکیل تیغه‌های استخوانی(پیکان سفید رنگ) در محل نقیصه همراه با ظهور مغز استخوان قرمز (پیکان زرد رنگ) در بیشتر از نیمی از محل نقیصه د) گروه زنوگرافت: تشکیل استخوان متراکم (پیکان آبی رنگ) همراه با بافت غضروفی (پیکان سفید رنگ) و ظهور مغز استخوان (پیکان زرد رنگ) در محل نقیصه استخوانی.

منابع

1- Arrington, E. D; Smith, W. J; Chambers H. G, Bucknell A. L. and Davino N. A. Complications of iliac crest bone graft harvesting. Clin Orthop; 1996; 329:300-309.

2- Damien, C. and Parsons, R; Bone graft and bone graft substitutes: review of current technology and applications. J Appl Biomat; 1991; 2: 187-208.

3- Emami, M. J; Oryan, A; Saeidinasab, H. and Meimandi Parizi, A. The effect of

www.SID.ir

9- Bigham-Sadegh, A. and Oryan, A; Selection of animal models for pre-clinical strategies in evaluating the fracture healing, bone graft substitutes and bone tissue regeneration and engineering. Connect Tissue Research; 2015(0): 1-20.

10- Parizi, A. M; Oryan, A; Shafiei-Sarvestani, Z. and Bigham, A. S; Human platelet rich plasma plus Persian Gulf coral effects on experimental bone healing in rabbit model: radiological, histological, macroscopical and biomechanical evaluation. J Material Sci Material Medi; 23(2): 473-483.

11- Shafiei-Sarvestani, Z; Oryan, A; Bigham, A. S. and Meimandi-Parizi A; The effect of hydroxyapatite-hPRP, and coral-hPRP on bone healing in rabbits: radiological, biomechanical, macroscopic and histopathologic evaluation. Internat J Surgery; 10(2): 96-101.

12- Zhang, N; Wu, Y. P; Qian, S. J; Teng, C; Chen, S. and Li, H; Research progress in the mechanism of effect of PRP in bone deficiency healing. Sci World J; 2013.

13- Lane, J. M. and Sandhu, H; Current approaches to experimental bone grafting. The Orthopedic clinics of North America; 1987;18(2): 213-225.

14- Tuominen, T; Jämsä, T; Tuukkanen, J; bone marrow graft on bone healing: A radiological and biomechanical study. IJMSc.; 2002; 27:63-66.

4- Meimandi Parizi, A; Jelodar, G; Moslemi, H. A. KT. and Emami M. J; Influence of hydroxyapatite on fracture healing in diabetic rats: biomechanical and radiographic studies. Veterinarski Arhiv.; 2010; 80: 113-120.

5- Meimandi Parizi, A. and Zeidabadi nejad, G. R; Biomechanical and radiographical evaluation of the effects of constant direct current on the fracture healing of the radius in the rabbits. J Facult Vet Med Univ Tehran.; 1997; 52: 1-10.

6- Hollinger, J. O; Brekke, J; Gruskin, E. and Lee D; Role of bone substitutes. Clin Orthop Relat Res.; 1996; 324: 55-65.

7- Bostrom, M. P; Saleh, K. J. and Einhorn, T. A; Osteoinductive growth factors in preclinical fracture and long bone defects models. Orthop Clin North Am.; 1999; 30: 647-658.

8- Oryan, A; Parizi, A. M; Shafiei-Sarvestani, Z. and Bigham, A. S; Effects of combined hydroxyapatite and human platelet rich plasma on bone healing in rabbit model: radiological, macroscopical, hidtopathological and biomechanical evaluation. Cell tissue bank; 13(4): 639-651.

www.SID.ir
نشریه علوم درمانگاهی دامپزشکی ایران

Platelet Gel: in Vitro Study. Iranian J Pediat Hematol Oncol. 2012; 2(2).

20-Akingboye, A. A; Giddins, S; Gamston, P; Tucker, A; Navsaria, H. and Kyriakides, C; Application of autologous derived-platelet rich plasma gel in the treatment of chronic wound ulcer: diabetic foot ulcer. J Extra-corporeal Technol. 2010; 42(1):20-29.

21- Lindeboom, J. A; Mathura, K. R; Aartman, I. H; Kroon, F. H. and Milstein, D. M; Ince C. Influence of the application of platelet-enriched plasma in oral mucosal wound healing. Clinic Oral Implant Res; 2007; 18(1): 133-139.

22- Wrotniak, M; Bielecki T. and Gaździk T. S; Current opinion about using the platelet-rich gel in orthopaedics and trauma surgery. Ortopedia, traumatologia, rehabilitacja; 2006; 9(3): 227-238.

23- Jia, W; Zhang, C; Wang, J; Chen, J. and Jiang, Y; [An experimental study on antimicrobial efficacy of platelet-rich plasma for bone infection prophylaxis]. Zhongguo xiu fu chong jian wai ke za zhi= Zhongguo xiufu chongjian waike zazhi= Chine J Reparat Reconstruct surgery; 2010; 24(7): 864-870.

Nieminen, P; Lindholm, T. and Lindholm, T; Native bovine bone morphogenetic protein improves the potential of biocoral to heal segmental canine ulnar defects. International orthopaedics; 2000; 24(5): 289-294.

15- Arpornmaeklong, P; Kochel, M; Depprich, R; Kübler, N. and Würzler, K; Influence of platelet-rich plasma (PRP) on osteogenic differentiation of rat bone marrow stromal cells. An in vitro study. Internat J oral maxillofacial surg; 2004; 33(1):60-70.

16- Kilian, O; Flesch, I; Wenisch, S; Taborski, B; Jork, A. and Schnettler, R; Effects of platelet growth factors on human mesenchymal stem cells and human endothelial cells in vitro. Europ J Medical Res; 2004; 9(7): 337-344.

17- Graziani, F; Ivanovski, S; Cei, S; Ducci, F; Tonetti, M. and Gabriele, M, The in vitro effect of different PRP concentrations on osteoblasts and fibroblasts. Clinica oral implants Res; 2006; 17(2): 212-219.

18- Kasten, P; Vogel, J; Geiger, F; Niemeyer, P; Luginbühl, R. and Szalay, K; The effect of platelet-rich plasma on healing in critical-size long-bone defects. Biomaterials. 2008; 29(29): 3983-392.

19- Tayer, A. H; Alizadeh, S. and Bateni, M. H; Efficacy of a New Autologus

www.SID.ir

Archive of SID

www.SID.ir

Iran. J. Vet. Clin. Sci.; 2019; 13(2): 33-41.

The effect of allograft PRP and xenograft PRP on bone defect healing in rabbit model

Bigham Sadegh, A[1]; Sharifi, S.[2*]; Oryan, A.[3]; shadkhast, M[4]; Javdani M.[5]; Montazeri Balajadeh, S.[6]

1- Professor, Department of Clinical Sciences, Faculty of Veterinary Medicine, University of Shahrekord, Shahrekord-Iran.
2- Assistant Professor, Department of Clinical Sciences, Faculty of Veterinary Medicine, University of Shahrekord, Shahrekord-Iran.
3- Associate Professor, Department of of Clinical Sciences, Faculty of Veterinary Medicine, University of Shahrekord, Shahrekord-Iran.
4- Professor, Department of Clinical Sciences, Faculty of Veterinary Medicine, University of Shiraz, Shiraz-Iran.
5- Associate Professor, Department of Basic Sciences, Faculty of Veterinary Medicine, University of Shahrekord, Shahrekord-Iran.
6- Graduated Veterinary Medicine, Faculty of Veterinary Medicine, University of Shahrekord, Shahrekord-Iran.

Received: 31 July 2018 ***Accepted:*** 24 May 2019

Summary

Bone injuries caused by accidents, tumors, osteomyelitis, loosening devices, fixed or corrective osteotomy surgical interventions are needed to surgical interventions because spontaneous recovery occurs only in small and limited damage. Autografting technique is still as a golden standard technique but there are some limitations like harvested area complications. There are many osteoinduction agents such as platelet-derived growth factor, vascular growth factors and growth factor that cause cell differentiation, proliferation of cells and fibroblasts deposition. This study was conducted on 4 groups (20 Rabbits, each group=5) of rabbits. The control group the defected area was left empty and in autograft group autologous bone was implanted in the defected area. In xenogenic PRP group, bovine PRP 1 ml was injected in the defected area. Finally, in allogenic PRP group, rabbit PRP 1 ml was injected in the defected area. X-rays were taken on 14th, 28th, 42nd and 56th postoperative days. After 8 weeks Post-Operation bone samples were taken from healed area for for histopathological evaluation. Results showed that the use of PRP has been efficient in rabbit bone defect healing and the use of bovine PRP is more representative.

Keywords: Rabbit PRP, bovine PRP, bone healing, rabbit model.

* Corresponding Author E-mail: drsharifisiavash94@gmail.com

www.SID.ir