

بررسی مقایسه‌ای اثر نانوساختار آلومینا-گرافیت با غضروف دنده‌ای اتوژنیک در ترمیم نقیصه‌ی استخوانی در سگ

میلاذ رجبی^۱، سیاوش شریفی^{۲*}، محمد براتی^۳، ایرج کریمی^۴ و امین بیغم صادق^۵

^۱ دانش‌آموخته‌ی دکترای حرفه‌ای، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه شهرکرد، شهرکرد، ایران

^۲ استادیار، گروه علوم درمانگاهی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه شهرکرد، شهرکرد، ایران

^۳ استادیار، دانشکده شیمی کاربردی، دانشگاه کاشان، کاشان، ایران

^۴ دانشیار، گروه پاتوبیولوژی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه شهرکرد، شهرکرد، ایران

^۵ استاد، گروه علوم درمانگاهی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه شیراز، شیراز، ایران

پذیرش: ۱۳۹۹/۴/۲۵

دریافت: ۱۳۹۸/۹/۲۴

چکیده

بافت استخوان دارای ویژگی‌های ساختاری خاصی می‌باشد که به خصوص به علت ساختار ترکیبی استخوان می‌باشد که ترکیبی از هیدروکسی آپاتیت، کلاژن، مقدار کمی از پروتئوکلکان، پروتئین‌های غیرکلاژنه و آب می‌باشد. ساختار شیمیایی ماده‌ی اولیه مورد استفاده، مخلوطی از پودر آلومینا و گرافیت است. آلومینا یک ساختار معدنی غیرکلاژنه و غیربازی است که از نظر تخلخل، جزء مواد نانو متخلخل طبقه‌بندی می‌شود. در بعضی از ساختارهای آن، نیمی از حجم به فضاهای متخلخل تعلق دارد. ۱۵ قلابه سگ به طور تصادفی به سه گروه کنترل، گروه دریافت‌کننده‌ی غضروف اتوژنیک و گروه دریافت‌کننده‌ی آلومیناگرافیت تقسیم شدند در سطح قدامی جانبی استخوان بازو برش زده شد. با کنار زدن پوست، بافت هم‌بند و عضلات، استخوان بازو نمایان شد و برش به طول ۱ سانتی‌متر و عرض ۱ سانتی‌متر در بدنه‌ی استخوان بازو ایجاد و در بست آلومینا-گرافیتی در نقیصه‌ی ایجاد شده قرار گرفت، در گروه دیگر غضروف اتوژنیک جدا شده از قوس دنده‌ای در نقیصه ایجاد شده قرار داده شد و گروه کنترل هیچ گونه ماده‌ای در نقیصه ایجاد شده قرار نگرفت. بین گروه‌های کنترل، گروه درمانی با غضروف اتوژنیک و گروه آلومیناگرافیت در معیارهای ترمیم استخوان اختلاف معنی‌دار مشاهده گردید. استفاده از آلومینا گرافیت در مقایسه با غضروف دنده‌ای اتوژنیک می‌تواند باعث ترمیم سریع‌تر استخوان شود.

کلمات کلیدی: نانو ساختار آلومینا-گرافیت، غضروف اتوژنیک، سگ، ترمیم استخوان

مقدمه

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

آسیب‌های وسیع استخوانی ناشی از تصادف، تومور، استئومیلیت، شل شدن ادوات تثبیتی، یا استئوتومی‌های اصلاحی نیازمند مداخلات جراحی می‌باشند، زیرا ترمیم

* نویسنده مسئول: سیاوش شریفی، استادیار، گروه علوم درمانگاهی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه شهرکرد، شهرکرد، ایران

E-mail: drsharifisiavash94@gmail.com



© 2020 by the authors. Licensee SCU, Ahvaz, Iran. This article is an open access article distributed under the terms and conditions of the Creative Commons Attribution-NonCommercial 4.0 International (CC BY-NC 4.0 license) (<http://creativecommons.org/licenses/by-nc/4.0/>).

کار رود. پس از این عملیات، مرحله‌ی ایجاد تخلخل‌های ماکرو بر روی سطح، به منظور ایجاد فضای مناسب برای رشد سلولی می‌بایست انجام گردد. این مرحله در واقع یک عملیات حرارتی خشک در دماهای بسیار بالاست. پس از آماده‌سازی نمونه، آزمون مقاومت در برابر ضربه، آزمون اندازه‌گیری مساحت سطح و تصویربرداری الکترونی SEM جهت تأیید تولید ماده مورد نظر انجام می‌گیرد. نمونه‌ی تولید شده قابلیت شکل دهی و تغییر اندازه از طریق برش و سوراخ کاری و دیگر عملیات‌های مکانیکی مشابه را دارد (Hesaraki. 2016, Kurşun et al. 2016).

مواد و روش کار

برای این مطالعه ۱۵ قلابه سگ نر تقریباً هم وزن و سن بین ۱/۵ تا ۲ سال انتخاب شدند. جهت سازگاری سگ‌ها به شرایط جدید، آن‌ها به مدت ۱۵ روز در خانه حیوانات دانشکده دامپزشکی نگهداری شدند. جهت انگل‌زدایی سگ‌ها از داروی آیورمکتین با دوز ۱۰ میلی‌گرم به ازای هر کیلوگرم وزن زنده به روش زیر جلدی استفاده شد.

سگ‌ها به طور تصادفی به سه گروه مساوی کنترل، دریافت‌کننده غضروف دنده‌ای اتوزنیک و گروه دریافت‌کننده نانوالومینا گرافت تقسیم شدند. به منظور جراحی سگ‌ها با ترکیبی از داروهای کتامین با دوز ۱۰ mg/kg و دیازپام با دوز ۰/۵ mg/kg بیهوش شده و سپس بیهوشی از طریق استنشاقی با گاز هالوتان ادامه پیدا کرد. سطح داخلی بازو تراشیده شد و برای جراحی آماده گردید. جهت ایجاد نقیصه‌ی استخوان بازو، با ایجاد برش در قسمت craniomedial و کنار زدن پوست، بافت هم‌بند و عضلات، استخوان بازو نمایان شد و برشی به طول ۲ و عرض ۱ سانتی‌متر در بدنه‌ی استخوان بازو ایجاد گردید به طوری که یک تکه‌ی مستطیلی شکل با ابعاد مذکور از سطح داخلی استخوان بازو برداشته شد. برای گروه کنترل نقیصه ایجاد شده خالی گذاشته شد. در گروه درمانی با غضروف دنده‌ای اتوزنیک، به طور هم زمان در قسمت انتهایی دنده‌های شش و هفت در سمت راست بدن برشی ایجاد و به اندازه‌ی مورد

درگیری و ابتلای محل برداشت و مقدار برداشت از مشکلات به کار بردن این نوع از پیوند می‌باشد (Arrington et al. 1991). امروزه استفاده از تکنیک‌هایی مثل پیوند خودی، غیرخودی (آلوگرافت) و جایگزین‌های مواد معدنی استخوانی بسیار رایج شده است ولی خود این تکنیک‌ها هم محدودیت‌های خاص مثل مشکلات بیولوژیکی و بیومکانیکی خود را دارند (Arrington et al. 1996, Bauer et al. 1999, Den et al. 2003). بنابراین استفاده از مواد القاء‌کننده‌ی استخوان‌سازی و هدایت‌کننده‌ی های استخوان‌سازی به شکل همزمان بیش‌تر مورد توجه است. استفاده از ماتریکس دمنیراله شده استخوان و فاکتورهای رشد به شکل همزمان جهت تحریک استخوان‌سازی از آن جمله هستند (Bostrom et al. 1999). ترمیم آهسته‌ی استخوان، رباط، تاندون و بافت‌های نرم بعد از جراحی به دلیل خون‌رسانی ضعیف به این اندام‌ها، یک پدیده‌ی شایع در اغلب بیماران است (Bigham-Sadegh et al. 2015).

رویکردهای حال حاضر در جراحی شکستگی‌ها و آسیب‌های مفصلی، استفاده از ایمپلنت‌های فلزی می‌باشد که این ایمپلنت‌ها به علت حرکت، التهاب و جذب استخوانی و نیز استخوان ناشی از ایمپلنت پارگی و بارگذاری نامناسب شکست‌پذیر هستند (Abu-Amer, et al. 1999, Bauer et al. 2007). پیوند بافت خودی یا گونه یکسان، کاربردهای کلینیکی آن را محدود ساخته است و به عنوان جایگزین، رویکرد مهندسی بافت می‌تواند جهت جایگزین استخوان راهکار جدیدی را پیشنهاد دهد (Bigham-Sadegh et al. 2015).

ساختار شیمایی ماده‌ی اولیه مورد استفاده، مخلوطی از پودر آلومینا و گرافیت است. آلومینا یک ساختار معدنی غیراسیدی و غیربازی است که از نظر تخلخل، جزء مواد نانو متخلخل طبقه‌بندی می‌شود. در بعضی از ساختارهای آن، نیمی از حجم به فضاهای متخلخل تعلق دارد. این پودر با عملیات‌های مکانیکی و تحت فشارهای بالا می‌تواند به ساختاری تبدیل گردد که به عنوان جایگزین استخوان به

اسید آلی ۱۰ درصد (اسید فرمیک) قرار داده تا کلسیم زدایی صورت پذیرد. سپس به منظور آب گیری، نمونه‌ها در غلظت‌های ۸۰ تا ۱۰۰ درصد الکل قرار گرفتند و بعد از آن در پارافین گذاشته شدند. سپس مقاطع بافتی با ضخامت ۵ میکرون تهیه و در دستگاه رنگ‌آمیزی بافت به روش هماتوکسیلین - ائوزین رنگ‌آمیزی شدند. نهایتاً مقاطع با میکروسکوپ نوری بررسی شده و مورد ارزیابی قرار گرفتند. به منظور ارزیابی و درجه‌بندی مقاطع از سیستم معنای نزدیک شدن به ترمیم است که برای درجه‌بندی ترمیم از نظر آسیب‌شناسی استفاده شده است.

Table 2: Histopathological evaluation system of bone healing samples by Hieple method

Scale	observations	Score
Welding	Non-Welding	0
	Fibrosis-Welding	1
	Osteochondral Welding	2
	Bone-Welding	3
	Complete bone body formation	4
Sponge bone	Lack of formation	0
	Primary formation	1
	Active formation of new bone	2
	Spongy bone formation	3
Cortex	Complete formation of spongy bone	4
	Lack of formation	0
	Primary formation	1
	Forming	2
	Formation of most parts	3
Complete formation of the cortex	4	

برای انجام تست‌های آماری از نرم‌افزار SPSS نسخه ۲۲ استفاده شد. نتایج به دست آمده از داده‌های nonparametric با استفاده از آزمون آماری Kruskal - Wallis مورد تجزیه و تحلیل آماری قرار گرفتند و هنگامی که ارزش P کمتر از 0.05 می‌شد، مجدداً با آزمون آماری Mann - Whitney مورد تجزیه و تحلیل آماری قرار می‌گرفتند. در این آزمون اگر مقادیر به دست آمده کمتر از 0.05 می‌شدند، از نظر آماری معنی‌دار تلقی می‌شد.

نیاز از قسمت غضروفی انتهای دنده جهت پیوند برداشته و در محل نقیصه به صورت مستحکم جایگزین گردید ولی تثبیت نشد. در گروه درمانی ساختار نانو آلومینا-گرافیت (ساخته شده در دانشکده شیمی کاربردی دانشگاه کاشان)، در نقیصه ایجاد شده قرار داده شد. نهایتاً بعد از انجام پیوند، عضلات و بافت زیر جلدی در دو لایه با نخ بخیه‌ی ویکریل ۱ و پوست با نخ غیر قابل جذب نایلون ۱ بخیه شدند. جهت جلوگیری از عفونت بعد از عمل به مدت ۳ روز، هر روز یک مرتبه به سگ‌ها داروی آنتیبیوتیک پنی سیلین با دوز 20000 IU/kg به روش عضلانی تزریق شد. داروی فلونیکسین مگلو مین به منظور کنترل درد در سگ‌ها با دوز ۲ mg/kg به روش عضلانی یک بار تزریق شد.

رادیوگراف‌ها از موضع عمل در هفته‌های ۲، ۴، ۶ و ۸ بعد از جراحی در نمای داخلی - جانبی تهیه شدند. برای ارزیابی و درجه‌بندی رادیوگراف‌های تهیه شده از سیستم درجه‌بندی تغییر شکل یافته Sandhu و Lane استفاده شد (Tawonsawatruk et al. 2014).

Table 1: Lane and Sandhu modified grading system for bone healing radiographs

Bone formation	Grading
Lack of bone formation	0
25% defect filling	1
50% defect filling	2
75% defect filling	3
100% defect filling	4
Upper and lower welding	
Non-welding	0
Low welding	1
Complete welding	2
reconstruction	

در روز ۵۶ بعد از جراحی، سگ‌ها با کتامین و دیازپام بیهوش و با تزریق داخل وریدی سولفات منیزیم آسان‌کشی شده و استخوان بازوی هر سگ و تمامی بافت‌های نرم اطراف آن از استخوان جدا شدند. استخوان‌ها جهت ارزیابی هیستوپاتولوژی در داخل فرمالین ۱۰ درصد قرار داده و به آزمایشگاه فرستاده شدند. نمونه‌ها به مدت ۴۸ ساعت داخل فرمالین ۱۰ درصد فیکس شدند. ۳ روز در

نتایج

Table 3: Results from radiological evaluation of numbers are shown in median (maximum – minimum)

Week	Control Group	Autogenous cartilage Group	Nano alumina-graphite
2	2(1-5)	3(1-3)	4(1-5)
4	4(2-5)	4(4-6)	5(4-5)
6	5(4-8)	5(4-7)	5(4-6)
8	8(5-8)	6(5-8)	7(5-8)

تمامی سگ‌ها بعد از انجام عمل جراحی، بازگشت از بیهوشی بسیار آرامی داشتند و در ناحیه‌ی جراحی تورم و التهاب دیده شد و در حین وزن‌گذاری اندکی لنگش مشاهده گردید. التهاب و تورم و لنگش سگ‌ها تا روز پنج بعد از عمل به کلی رفع گردید.

همان‌طور که در Table 3 مشاهده می‌شود در هفته‌های مختلف بین هیچ کدام از گروه‌های مورد مطالعه از نظر درجه‌بندی رادیوگرافی اختلاف معنی‌دار ($p > 0.05$) مشاهده نمی‌شود (Table 3 و Figures 1 & 2 & 3).

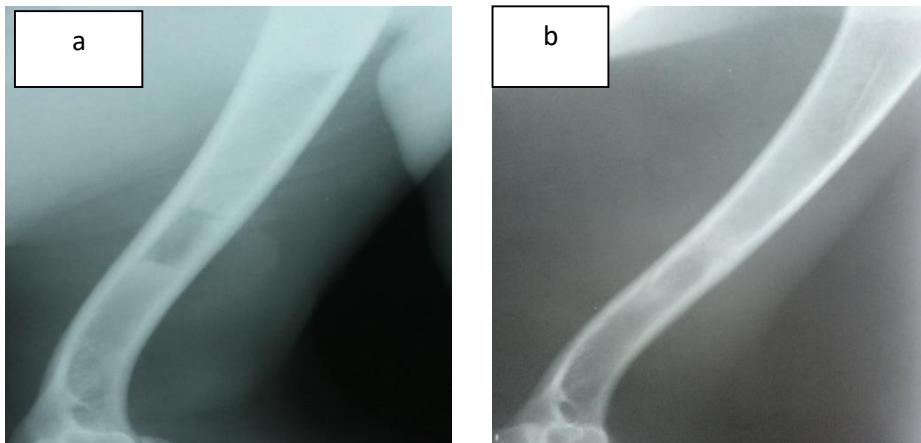


Figure 1: Radiograph of the control group: a) the second week after surgery b) the eighth week after surgery

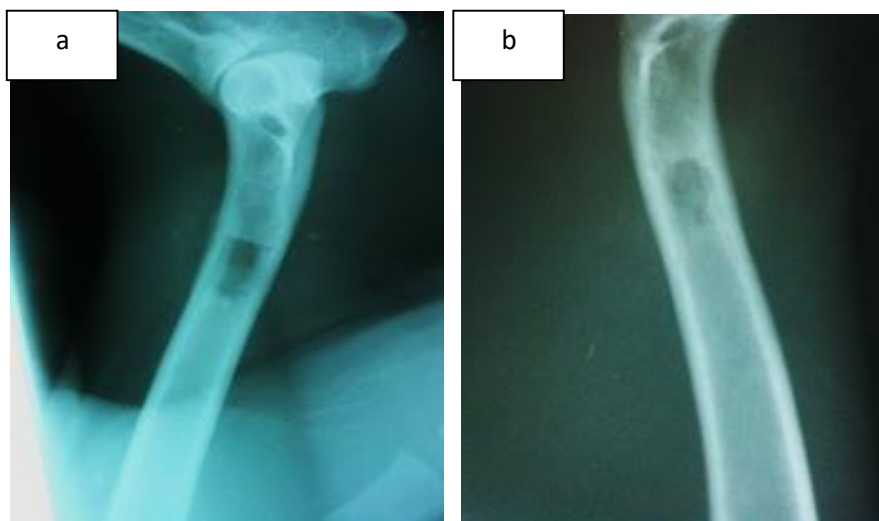


Figure 2: Radiograph of autogenous rib cartilage: a) the second week after surgery b) the eighth week after surgery

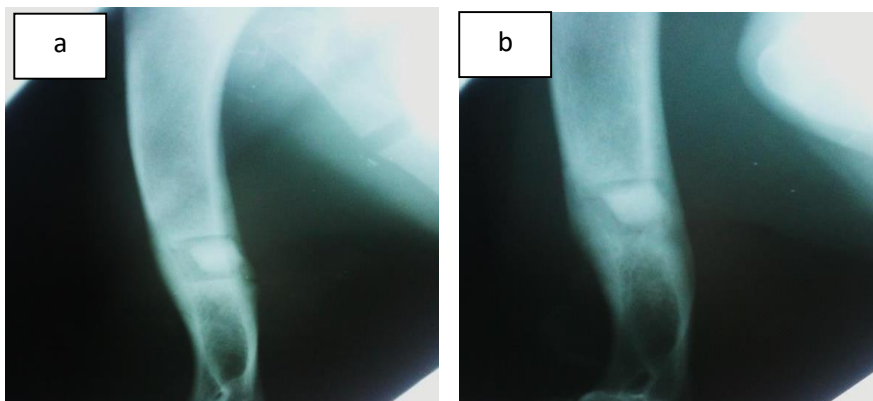


Figure 3: Radiograph of nano-alumina graphite group: a) the second week after surgery b) the eighth week after surgery

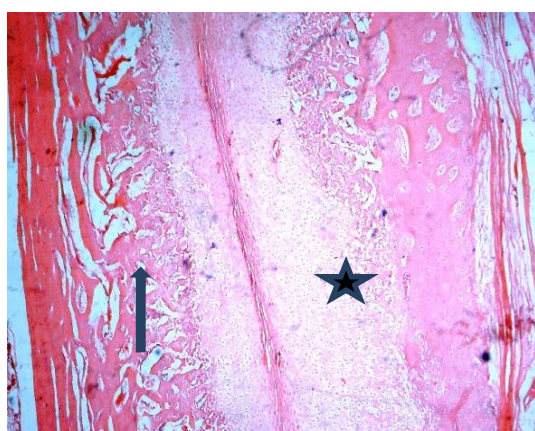


Figure 5: Histopathological section of the autogenous rib cartilage at week 8. Bone formation (arrow) with cartilage tissue in fracture site (star) (H&E, X100).

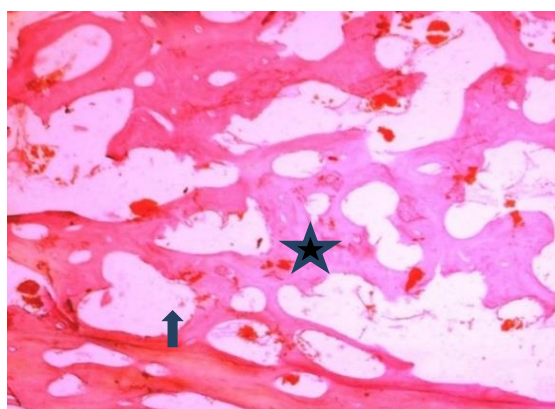


Figure 6: Histopathological section of nano-alumina-graphite group at week 8. Complete bone formation (star) and bone marrow space (arrow) (H&E, X100).

نتایج به دست آمده از ارزیابی هیستوپاتولوژی نشان می‌دهد که بین گروه‌های کنترل و گروه درمانی با غضروف اتوزنیک، در معیارهای استخوان اسفنجی ($P=0.01$)، استخوان متراکم ($P=0.01$) و جوش خوردگی ($P=0.04$) اختلاف معنی‌دار وجود دارد. به طوری که گروه درمانی با غضروف اتوزنیک از گروه کنترل خالی ضعیف‌تر عمل کرده است. همچنین بین گروه‌های درمانی نانو آلومینا-گرافیت و غضروف اتوزنیک نیز در معیارهای استخوان اسفنجی ($P=0.05$)، استخوان متراکم ($P=0.01$)، جوش خوردگی ($P=0.01$) و مغز استخوان ($P=0.01$) اختلاف معنی‌دار وجود دارد، به طوری که گروه درمانی نانو آلومینا-گرافیت از گروه غضروف اتوزنیک بهتر عمل کرده است. اما بین گروه درمانی نانو آلومینا-گرافیت و گروه کنترل خالی اختلاف معنی‌دار ($P>0.05$) وجود ندارد (Figures 4 & 5 & 6 و Table 1 & 2 & 4).



Figure 4: Histopathology section of control group at week 8. Formation of sponge bones in surgical site (arrow) and presence of bone marrow (star) (H&E, X100).

Table 4: Results obtained from histopathological evaluation of the numbers are shown in median (maximum – minimum)

Criterion	Control Group	Autogenous Rib Cartilage Group	Nano alumina-graphite Group
Welding	3(3-3)	2(1-2) ^b	3(2-3)
Sponge bones	3(3-4)	2(0-3) ^c	4(4-4)
Dense bone	2(2-3)	1(0-2) ^d	3(2-4)
Bone marrow	2(1-2)	1(0-2) ^e	2(2-2)

The letters b, c, d, e indicate a significant difference between the gear cartilage group and the Nano-alumina graphite group ($p < 0.05$). The rib cartilage group performed worse than the other two groups. The control group and the Nano-alumina graphite group showed no significant difference.

بحث

Sharifi و همکاران در سال ۲۰۱۷ پیوند اتوگرافت غضروف دنده‌ای در ترمیم نقیصه‌ی استخوانی در استخوان بازوی سگ را بررسی کردند. آن‌ها بیان داشتند اگر چه مراحل از پیشرفت در ترمیم نقیصه در طی ۱۰ هفته دیده شد ولی جوش خوردگی کاملی ایجاد نگردید و مطالعات هیستوپاتولوژیکی آن‌ها نشان دهنده‌ی پیشرفت اندک در بهبود نقص استخوان در گروه تحت درمان با غضروف‌های دنده‌ای اتوژنیک بود (Sharifi et al. 2017).

Saifzadeh و همکاران در سال ۲۰۰۶ پیوند اتوگرافت غضروف الاستیک گوش در ترمیم نقیصه‌ی استخوانی در استخوان رادیوس سگ را بررسی کردند. آن‌ها بیان داشتند اگر چه مراحل از پیشرفت در ترمیم نقیصه در طی ۸ هفته دیده شد ولی جوش خوردگی کاملی ایجاد نگردید. به گفته‌ی آن‌ها مقدار کالوس تشکیل شده در نقیصه نشان می‌دهد که در طی زمان، احتمالاً جوش خوردگی کامل ایجاد خواهد شد، اگر چه به گفته‌ی آن‌ها نمی‌توان بدون انجام پژوهشی در زمان طولانی‌تر از این امر مطمئن گردید (Saifzadeh et al. 2006).

Montufar و همکاران در سال ۲۰۰۴ بافت غضروفی موش را بعد از فراوری در یک محیط زیست واکنش‌گر، در نقیصه ایجاد شده در استخوان کتف موش‌ها قرار دادند و شاهد استخوانی شدن آن بودند. به گفته‌ی آن‌ها این که همین نتایج در استخوان‌های بلند نیز حاصل شود یا خیر، باید بررسی شود (Montufar-Solis et al. 2004).

تاریخچه‌ی استفاده از سگ‌ها در تحقیقات ارتوپدی به دلیل مقایسه‌ای بودن اطلاعات به دست آمده از آن با مطالعات انسانی، در خیلی از موارد مطابق استاندارد سازمان غذا و داروی جهانی می‌باشد. به گونه‌ای که در پاره‌ای از موارد برخی شرکت‌ها درخواست انجام مطالعات دارویی از نظر تأثیرگذاری در سگ را دارند (Pippenger et al. 2015). دلیل استفاده از غضروف دنده‌ای در این مطالعه این بود که در دوره‌ی جنینی، قالب اولیه تشکیل استخوان‌های دراز و کوتاه از نوع غضروف شفاف است. غضروف دنده‌ای نیز از نوع غضروف شفاف می‌باشد (Junqueira et al. 2005). در طی نمو جنینی، اغلب اسکلت استخوانی از طریق فرایند استخوان‌سازی داخل غضروفی شکل می‌گیرد، این فرایند شامل یک قالب غضروفی است که به تدریج معدنی و حاوی عروق می‌شود. استخوان‌های بلند در طی رشد جنین و بعد از تولد، به صورت طولی از طریق استخوان‌سازی داخل غضروفی رشد می‌کنند و در طول ترمیم شکستگی، این روند دوباره فعال می‌شود و مراحل استخوان‌سازی داخل غضروفی در طول فرایند ترمیم تکرار می‌شوند (Montufar-Solis et al. 2004).

اگر چه در گروه درمانی با غضروف در مقایسه با دو گروه دیگر نتایج ضعیف‌تری مشاهده گشت ولی در عکس‌های هیستوپاتولوژی شروع تشکیل حفرات مغز استخوان در داخل غضروف، در محل شکستگی که از مراحل اولیه تبدیل استخوان به غضروف است، دیده شد.

است. پیشرفت چشم‌گیر در رابطه با مواد به کار رفته در داربست با قابلیت ساختار حمایتی جهت استخوان‌زایی و رنگ‌زایی صورت گرفته است. مواد سرامیکی زیستی برای بازسازی و جایگزینی بخش‌های آسیب دیده در بدن انسان به کار می‌رود. در مطالعه‌ی پیش‌رو، روند بهبود تولید داربست سرامیکی با تخلخل کنترل شده صورت گرفته است. سرامیک آلومینا با قابلیت زیستی و ختشی به عنوان داربستی متخلخل و قابلیت استحکام بالا تولید شده است.

سلول‌های استرومای مغز استخوان خودی تمایز یافته روی داربست، برای بازسازی استخوان قلم سگ استفاده شده است. این سلول‌ها از مغز استخوان بازوی سگ جداسازی شده و در حین کشت به سلول‌های استئوبلاست تمایز داده شد و روی داربست‌های متخلخل سرامیکی قرار داده شده‌اند که حاوی هیدروکسی آپاتیت و کلسیم فسفات بود. ترمیم سریع‌تر و اولیه و تشکیل بافت کالوس بیشتر، تشکیل تراکول، تراکم بالاتر و کاهش بافت فیبروزی در گروه داربست کلسیم فسفات حاوی سلول‌های استرومای مغز استخوان مشاهده شد. ارزیابی ترمیم به وسیله‌ی داربست حاوی سلول‌های خودی مثبت بود و داربست کلسیم فسفات در تمایز سلولی در شرایط آزمایشگاهی (In vitro) و داخل بدن (In vivo) دارای بهترین نتیجه بود (Özdağ-Kurt et al. 2015).

نانو کامپوزیت حاوی کلسیم فسفات در مقایسه با پیوند سلول خودی در ضایعه‌ی استخوان تیبیا و فیولای سگ کار گذاشته شد. داربست بایوگلاس حاوی بتا تری کلسیم فسفات در مقایسه با پیوند خودی در استخوان تیبیا و فیولای پای راست ۱۲ قلاده سگ ایجاد شد. ارزیابی رادیوگرافی در هفته‌ی ۰، ۲، ۴، ۱۲ پس از جراحی و ارزیابی بافت‌شناسی و بیومکانیک نمونه‌ها نیز صورت گرفت که نشان دهنده‌ی تشکیل بافت استخوانی جدید و استحکام آن در داربست بایوگلاس تری کلسیم فسفات مشاهده شد و پیشنهاد می‌شود به عنوان جایگزین بافت خودی استفاده شود (Tang et al. 2014).

Peltari و همکاران در سال ۲۰۱۵ با فراوری سلول‌های غضروفی بینی توسط کلاژن و فاکتور رشد، یک اصل اثبات شده را بیان می‌کنند که کندروسیت‌های بینی، پتانسیلی برای تبدیل شدن به سلول‌های استخوانی دارند و به طور مستقیم در تشکیل استخوان شرکت دارند و بقا و تشکیل استخوان توسط کندروسیت‌های بینی به طور قابل توجهی بالاتر از سلول‌های استخوان مرجع، (سلول‌های استرومایی مزانشیمی مشتق شده از مغز استخوان) است. در نتیجه می‌توانند برای بازسازی استخوان سر و صورت، به عنوان منبعی از سلول‌هایی که به راحتی نیز در دسترس هستند مورد بررسی قرار گیرند (Peltari et al. 2014).

Bardsley و همکاران در سال ۲۰۱۶ با قرار دادن سلول‌های غضروفی بینی رت در داربست پلی‌گلائیکولیک اسید و فراوری آن‌ها توسط افزایش بیان ژن‌های کلاژن، گرافت‌های غضروفی هایپرتونیک در محیط آزمایشگاه ایجاد کردند که با کارگذاری این گرافت‌ها در نقیصه استخوانی ایجاد شده در استخوان جمجمه‌ی رت‌ها، شاهد تبدیل آن‌ها به استخوان بودند. آن‌ها در ابتدا به منظور تولید سلول‌های غضروفی هایپرتونیک، توانایی دو نوع غضروف بینی و جناغی در تبدیل به این نوع سلول‌ها را بررسی کردند، که نهایتاً پس از فراوری این دو نوع سلول غضروفی به روش مذکور، آن‌ها شاهد نتایج بهتری در خصوص غضروف بینی بودند لذا از این نوع غضروف در مطالعه‌ی خود استفاده کردند. اگر چه دلیلی برای برتری این غضروف نسبت به غضروف دنده‌ای ارائه نکردند (Bardsley et al. 2017).

تحقیقات Tjelmeland و همکاران در سال ۲۰۰۰ نشان داد که جذب غضروف در محل پیوند به کندی و بیش از یک سال انجام می‌گیرد (Tjelmeland et al. 2000).

از این رو نیاز به استفاده از تکنیک‌های مهندسی بافت برای ارتقای روند التیام آسیب‌های استخوانی بیشتر حس می‌شود. طی یک دهه گذشته تحقیقات صورت گرفته در زمینه‌ی مهندسی بافت استخوان باعث نوآوری در زمینه مواد جدید، روش‌های آنالیز و ارزیابی عملکردی شده

استخوان فراهم سازد لذا باید به عنوان پایه، در ترکیب با فاکتورهای رشد و سایر مواد محرک استخوان‌ساز استفاده شود.

در خصوص غضروف نیز باید گفت با توجه به نتایج حاصله از این پژوهش و همچنین پژوهش‌های انجام شده، می‌توان نتیجه گرفت که استفاده از غضروف به تنهایی و بدون انجام هیچ فرایندی روی آن، نمی‌تواند به عنوان گزینه‌ی خوبی برای پیوند در نقیصه‌ی استخوانی سگ عمل کند. بر اساس نتایج هیستوپاتولوژی این مطالعه با گذشت ۷۰ روز از پیوند غضروف دنده‌ای اتوژنیک، علی‌رغم شروع ایجاد حفرات مغز استخوان در غضروف‌ها، که از مراحل اولیه‌ی استخوانی شدن می‌باشد، پیشرفت قابل توجهی در این امر حاصل نشد. بنابراین در خصوص استفاده از غضروف به منظور افزایش کارایی غضروف در پیوند، قبل از آن باید غضروف فرآوری شود و اعمال مذکور روی آن صورت پذیرد.

داربست متخلخل کلسیم فسفات حاوی کلاژن و فاکتورهای رشد برای بازسازی استخوان اطراف دندانی در سگ صورت گرفت. ارزیابی به وسیله‌ی مطالعه‌ی بافت-شناسی و عکس‌های سه بعدی در رابطه با قابلیت تجزیه-پذیری و استخوان‌سازی داربست کارگذاشته شده در یک طرف استخوان فک پایین سگ صورت گرفت که نتیجه آن حکایت از اثربخشی فاکتورهای رشد و کلاژن در تجزیه-پذیری و استخوان‌سازی داربست بود و می‌تواند به عنوان یک ماده‌ی زیست فعال در بازسازی بافت استخوانی اطراف دندانی مفید واقع شود (Xiao et al. 2015).

در مطالعه‌ی حاضر ما اثر داربست نانو آلومینا-گرافیت را به عنوان یک داربست به تنهایی بررسی کردیم. با توجه به نتایج ما و توجه به این که برای اولین بار این ساختار طراحی و به کار برده شد، می‌توان این طور نتیجه گرفت که نانو آلومینا-گرافیت می‌تواند به عنوان یک داربست با قابلیت‌های بالا در نقیصه‌های استخوانی سگ عمل کند ولی به تنهایی نمی‌تواند شرایط ایده‌آل را برای بازسازی بافت

تشکر و قدردانی

بدین وسیله از معاونت پژوهشی دانشگاه شهرکرد برای تأمین هزینه‌های این پژوهش تشکر و قدردانی می‌شود.

تعارض منافع

نویسندگان مقاله هیچ گونه تعارض منافی ندارند.

منابع مالی

منابع مالی این پژوهش در قالب طرح پایان‌نامه‌ی دانشجویی توسط دانشگاه شهرکرد تأمین شده است.

منابع

Abu-Amer, Y.; Darwech, I. and Clohisy, J.C. (2007). Aseptic loosening of total joint replacements: mechanisms underlying osteolysis and potential therapies. *Arthritis research and therapy*, 9(1):S6 .

Arrington, E.D.; Smith, W.J.; Chambers, H.G.; Bucknell, A.L. and Davino, N.A. (1996). Complications of iliac crest bone graft harvesting. *Clinical Orthopaedics and Related Research*, 329: 300-309 .

Bardsley, K.; Kwarciak, A.; Freeman, C.; Brook, I.; Hatton, P. and Crawford, A. (2017). Repair of bone defects in vivo using tissue engineered hypertrophic cartilage grafts produced from nasal chondrocytes. *Biomaterials*, 112: 313-323 .

Bauer, T.W. and Schils, J. (1999). The pathology of total joint arthroplasty. *Skeletal radiology*, 28(9):483-497 .

- Bigham-Sadegh, A. and Oryan, A. (2015). Selection of animal models for pre-clinical strategies in evaluating the fracture healing, bone graft substitutes and bone tissue regeneration and engineering. *Connective tissue research*, (0): 1-20 .
- Bigham-Sadegh, A. and Oryan, A. (2015). Basic concepts regarding fracture healing and the current options and future directions in managing bone fractures. *International wound journal*, 12(3): 238-247 .
- Bostrom, M. P.; Saleh, K.J. and Einhorn, T.A. (1999). Osteoinductive growth factors in preclinical fracture and long bone defects models. *Orthopedic Clinics*, 30(4): 647-658 .
- Damien, C.J. and Parsons, J.R. (1991). Bone graft and bone graft substitutes: a review of current technology and applications. *Journal of Applied Biomaterials*, 2(3) :187-208
- Den Boer, F.C.; Wippermann, B. W.; Blokhuis, T. J.; Patka, P.; Bakker, F. C. and Haarman, H.J.T.M. (2003). Healing of segmental bone defects with granular porous hydroxyapatite augmented with recombinant human osteogenic protein-I or autologous bone marrow. *Journal of orthopaedic research*, 21(3): 521-528 .
- Hesaraki, S. (2016). Feasibility of alumina and alumina-silica nanoparticles to fabricate strengthened betatricalcium phosphate scaffold with improved biological responses. *Ceramics International*, 42:7593-7604
- Junqueira, L.C. and Carneiro, J. (2005). *Basic histology text and atlas* London: McGraw Hill, 96:39-46
- Kurşun, A.; Bayraktar, E. and Enginsoy, H-M. (2016). Experimental and Numerical Study of Alumina Reinforced Aluminium Matrix Composites: Processing, Microstructural Aspects and Properties. *Composites Part B: Engineering*, B(90): 302-314 .
- Montufar-Solis, D.; Nguyen, H.; Nguyen, H.; Horn, W.; Cody, D. and Duke, P. (2004). Using cartilage to repair bone: an alternative approach in tissue engineering. *Annals of biomedical engineering*, 32(3): 504-509 .
- Özdal-Kurt, F.; Tuğlu, I.; Vatansever, H.; Tong, S. and Deliloğlu-Gürhan, S. (2015). The effect of autologous bone marrow stromal cells differentiated on scaffolds for canine tibial bone reconstruction. *Biotechnic & Histochemistry*, 90(7):516-528
- Pelttari, K.; Pippenger, B.; Mumme, M.; Feliciano, S.; Scotti, C.; Mainil-Varlet, P. and Jakob, M. (2014). Adult human neural crest-derived cells for articular cartilage repair. *Science translational medicine*, 6(251): 119-125
- Pippenger, B.E.; Ventura, M.; Pelttari, K.; Feliciano, S.; Jaquiere, C.; Scherberich, A. and Martin, I. (2015). Bone-forming capacity of adult human nasal chondrocytes. *Journal of cellular and molecular medicine*, 19(6): 1390-1399 .
- Saifzadeh, S.; Hobbenaghi, R. and Hodi, S. (2006). Elastic cartilage grafting in canine radial fracture. *Iranian Journal of Veterinary Research*, 7(4): 1-7 .
- Sharifi, S.; Karimi, I.; Soltani, S.; Bigham-Sadegh, A. and Hosseini, F. (2017). Comparison of Autogenic Costal Cartilage with Chitosan Scaffold in Canine Humeral Defect Healing. *Iranian Journal of Veterinary Surgery*, 12(1): 33-39 .
- Tang, D.; Xu, G.; Yang, Z.; Holz, J.; Ye, X.; Cai, S. and Wang, Y. (2014). Biphasic calcium phosphate nano-composite scaffolds reinforced with bioglass provide a synthetic alternative to autografts in a canine tibiofibula defect model. *Chinese medical journal*, 127(7): 1334-1338 .
- Tawonsawatruk, T.; Hamilton, D.F. and Simpson, A.H.R. (2014). Validation of the use of radiographic fracture-healing scores in a small animal model. *Journal of orthopaedic research*, 32(9): 1117-1119 .
- Tjelmeland, K. and Stal, S. (2000). Cartilage graft resorption: an animal model. *Aesthetic Surgery Journal*, 20(6): 471-476 .
- Xiao, Y.; Yin, Q.; Wang, L. and Bao, C. (2015). Macro-porous calcium phosphate scaffold with collagen and growth factors for periodontal bone regeneration in dogs. *Ceramics International*, 41(1): 995-1003 .

Received: 15.12.2019

Accepted: 15.07.2020

Comparative study of nanostructured effect of alumina-graphite with Autogenous rib cartilage in the repair of bone defects in dogs

Milad Rajabi¹, Siavash Sharifi^{2*}, Mohamad Barati³, Iraj Karimi⁴ and Amin Bigham Sadegh⁵

¹ DVM Graduated, 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 Assistant Professor, Faculty of Applied Chemistry, Kashan University, Kashan, Iran

⁴ Associated Professor, Department of Pathobiology, Faculty of Veterinary Medicine, University of Shahrekord, Shahrekord, Iran

⁵ Professor, Department of Clinical Sciences, Faculty of Veterinary Medicine, University of Shiraz, Shiraz, Iran

Received: 15.12.2019

Accepted: 15.07.2020

Abstract

Bone tissue has attractive structural features, especially due to its hybrid bone structure, which is a combination of hydroxyapatite, collagen, and small amounts of proteoglycans, non-collagenous proteins and water. The chemical structure of the material used is a mixture of alumina powder and graphite. Alumina is a non-acidic and non-base mineral structure that is classified in terms of porosity as a Nano-porous material. In some of its structures, half the volume belongs to the porous spaces. 15 dogs were randomly divided into three groups of control, autogenous cartilage recipient and alumina graft recipient group. By removing the skin, connective tissue, and muscles, the humerus was exposed and a 2 cm long and 1 cm wide incision was made in the humerus body and the alumina-graffiti was placed in the defect, the other group autogenous cartilage resected from rib arch was inserted in the created defect. In control group did not place any material in the created defect. There was a significant difference between control groups, autogenous cartilage group and alumina grafit in bone repair criteria. Using alumina graphite can cause bone healing faster than autogenous rib cartilage.

Key words: Alumina-graphite nanostructure, Autogenic cartilage, Dog, Bone healing

* **Corresponding Author:** Siavash Sharifi, Assistant Professor, Department of Clinical Sciences, Faculty of Veterinary Medicine, University of Shahrekord, Shahrekord, Iran
E-mail: drsharifisiavash94@gmail.com



© 2020 by the authors. Licensee SCU, Ahvaz, Iran. This article is an open access article distributed under the terms and conditions of the Creative Commons Attribution-NonCommercial 4.0 International (CC BY-NC 4.0 license) (<http://creativecommons.org/licenses/by-nc/4.0/>).