

ارزیابی اثرات ترانکرون و هیدروکسی آپاتیت بر روند ترمیم استخوان در مدل حیوانی خرگوش: بررسی رادیولوژیکی و هیستوپاتولوژیکی

خلاصه

پیش‌زمینه: امروزه در ارتوپدی دامپزشکی و انسانی برای تحریک التیام شکستگی‌ها، سرعت بخشیدن به اتصال مفصلی و ترمیم نقیصه‌های استخوانی از پیوند استخوانی استفاده می‌شود. به این منظور محققین مدام در حال تحقیق در انتخاب بهترین جایگزین ترمیم استخوان هستند. هدف از این مطالعه بررسی اثرات ترانکرون و هیدروکسی آپاتیت بر روند ترمیم استخوان در مدل حیوانی خرگوش می‌باشد.

مواد و روش‌ها: ابتدا ۲۰ قطعه خرگوش تهیه شد و به چهار گروه پنج‌تایی تقسیم شدند. یک گروه تزریقات ترانکرون به محل نقیصه استخوانی و یک گروه کنترل خالی بود و گروه دیگر در محل نقیصه هیدروکسی آپاتیت جایگذاری شد و گروه دیگر ترکیب هیدروکسی آپاتیت و ترانکرون بود. تزریقات در روزهای ۳، ۷، ۱۰ و بعد از عمل صورت گرفت و رادیوگراف‌ها از دست خرگوش‌ها بعد از عمل و در روزهای ۱۴، ۲۸، ۴۲ و ۵۶ در نمای جانبی تهیه شد و نمونه هیستوپاتولوژی هم در آخر دوره از استخوان زند زیرین در محل نقیصه گرفته شد.

یافته‌ها: از نظر رادیوگرافی گروه هیدروکسی آپاتیت-ترانکرون بهترین عملکرد را داشت و گروه کنترل خالی ضعیف‌ترین عملکرد را دارا بود. از نظر هیستوپاتولوژی هم بهترین عملکرد گروه هیدروکسی آپاتیت-ترانکرون بود و ضعیف‌ترین عملکرد مرتبط با گروه کنترل خالی بود. **نتیجه‌گیری:** در مجموع گروه ترانکرون و ترانکرون هیدروکسی آپاتیت در مقایسه با دو گروه دیگر از نظر ترمیم استخوانی بهتر عمل کرده بودند.

واژه‌های کلیدی: خرگوش، زند زیرین، ترانکرون، هیدروکسی آپاتیت

دریافت مقاله: ۴ ماه قبل از چاپ؛ مراحل اصلاح و بازنگری: ۱ بار؛ پذیرش مقاله: ۳ ماه قبل از چاپ

امین بیغم صادق**، *ایرج کریمی**، *****فرزانه حسینی**، ******حمید مرادی**

مقدمه

امروزه در ارتوپدی دامپزشکی و انسانی برای تحریک التیام شکستگی‌ها، سرعت بخشیدن به اتصال مفصلی و ترمیم نقیصه‌های استخوانی از پیوند استخوانی استفاده می‌شود. پیوند‌های خودی استخوانی تازه هنوز هم به عنوان یک معیار طلایی برای مقایسه سایر عوامل تحریک کننده استخوان سازی مطرح می‌باشند. استخوان پیوندی خودی (Autograft) علاوه بر مواد تحریک کننده التیام، حاوی سلول‌هایی است که واکنش‌های ایمنی را تحریک نمی‌کند و باعث انتقال بیمار بهای مسری نمی‌شود^(۱). در دام‌های کوچک برای جمع‌آوری استخوان خودی از ستیغ ایلئوم، سطح داخلی طرف بالای استخوان درشت‌نی و انتهای بالایی استخوان بازو استفاده می‌شود، در انسان هم از ستیغ ایلئوم جمع‌آوری می‌شود؛ ولی همین جمع‌آوری استخوان خودی عوارضی مثل درد، عفونت، شکستگی، از دست دادن خون و افزایش مراحل جراحی دارد و نیز مقدار استخوان برداشت شده محدود می‌باشد^(۱). در حال حاضر با توجه به مشکلاتی که پیوند خودی استخوانی دارد، تمایل برای استفاده از پیوند استخوانی غیرخودی مثل آلوگرافت و زنوگرافت بیشتر شده است. اولاً برای این پیوندها از نظر مقدار برداشت محدودیت وجود ندارد و حاوی سلول‌ها و مواد پروتئینی محرک التیام استخوان هستند. به علاوه به شکل مکانیکی یک داربست حمایتی را در شکاف‌های بزرگ استخوانی مثل برداشت تومورها و از دست رفتن بافت استخوانی تشکیل می‌دهد^(۲). با این حال در استفاده از آلوگرافت‌ها خطر انتقال بیمار بهای مسری وجود دارد.

*استاد، بخش جراحی و رادیولوژی
دانشکده دامپزشکی دانشگاه
شهرکرد
** دانشیار، پاتوبیولوژی دانشکده
دامپزشکی دانشگاه شهرکرد
*** دانشیار، بخش جراحی و
رادیولوژی دانشکده دامپزشکی
دانشگاه شهرکرد
**** فارغ‌التحصیل رشته دکتری
عمومی دامپزشکی دانشکده
دامپزشکی دانشگاه شهرکرد
نویسنده مسئول:
دکتر امین بیغم صادق
کد پستی ۸۸۱۸۶۳۴۱۴۱،
صندوق پستی ۱۱۵، آدرس پست
الکترونیکی:
dr.bigham@gmail.com

حیوانات مورد استفاده و گروه‌بندی

ابتدا ۲۰ قطعه از خرگوش نر بومی به وزن تقریبی ۲ کیلوگرم تهیه و داروی ضد انگل آیورمکتین (شرکت دارویی نصر، ایران) زیرپوستی تزریق شدند و به مدت پانزده روز در محیط جدید نگهداری شدند و با غذای استاندارد خرگوش تغذیه شدند. ۲۰ قطعه خرگوش به چهار گروه ۵ تایی تقسیم شدند. در ۵ خرگوش در محل نقیصه ترانکرون یک میلی‌گرم در میلی‌لیتر در نرمال سالین ۰/۹ درصد رقیق شد و با دوز یک میکروگرم بر کیلوگرم تزریق شد تزریقات در روزهای ۳، ۷، و ۱۰ بعد از عمل صورت گرفت و در ۵ خرگوش دیگر به‌عنوان گروه کنترل خالی باهمان حجم و همان روزها تزریق شد. ۵ خرگوش دیگر هم علاوه هیدروکسی آپاتیت (OS Satura[®], Isotis Co, Netherlands) در محل نقیصه گذاشته شد و در گروه دیگر علاوه بر جاگذاری هیدروکسی آپاتیت، ترانکرون هم به روش بالا تزریق شد. تمام مراحل مراقبت و نگهداری از حیوانات در طول مطالعه طبق راهنمای مراقبت از حیوانات آزمایشگاهی منتشرشده توسط انستیتوی ملی بهداشت (NIH publication No. 85-23, revised) (1985) صورت گرفت. مطالعه حاضر توسط کمیته اخلاق معاونت پژوهشی دانشگاه شهرکرد مورد تایید قرار گرفت^(۱).

روش جراحی

خرگوش‌ها با کتامین ۳۰ mg/kg و آسه پرومازین mg/kg ۰/۲ با تزریق عضلانی بیهوش شدند و دست راست آن‌ها تراشیده شده و آماده برای جراحی شد. برش پوست در سطح قدامی-داخلی بر روی استخوان رادیوس ایجاد شد و با کنار زدن بافت‌های نرم و عضلات، استخوان رادیوس در معرض دید قرار گرفت. قطعه‌ای از استخوان به‌اندازه‌ی دو برابر عرض (تقریباً ۱۰ میلی‌متر) آن برداشته شد و مواد زیستی به ترتیبی که در ابتدای مواد و روش کار اشاره شد در محل نقیصه کار گذاشته شد. بعد از پیوند، عضلات بخیه شد و پوست به شکل زیر جلدی و با نخ ویکریل دو صفر بخیه شدند. بعد از اینکه خرگوش‌ها کاملاً از بیهوشی برگشتند در قفس بدون تثبیت خارجی رها شدند. تمامی خرگوش‌ها به مدت ۲ روز و روزانه یک‌بار بعد از عمل پنی‌سیلین با دوز ۴۰/۰۰۰ واحد بین‌المللی و استرپتومایسین ۱۲ میلی‌گرم بر کیلوگرم تزریق عضلانی شدند.

هیدروکسی آپاتیت سنتتیک، تری کلسیم فسفات و ترکیب هر دوی آنها از جمله مواد متداول برای پیوند استخوان هستند^(۳). هیدروکسی آپاتایت خاصیت osteoconduction دارد و به‌عنوان داربست جهت رشد سلول‌های استخوان‌ساز کار می‌کند و خاصیت osteoinduction ندارد^(۴).

تارانولا کوبنسیس (*Tarantula cubensis*) عصاره‌ای است که به شکل وسیعی در درمان تومورها، آبسه‌ها، سپتی سمی و بیماری‌های توکسمیک مورد استفاده قرار می‌گیرد^(۵-۷). همچنین ادعا شده است که در ترمیم زخم گاو در روز چهارده باعث کاهش التهاب و اپیتلیالیزاسیون مجدد می‌شود^(۸،۹) و همچنین در کاهش سطح وسیعی از عفونت نقش داشته است^(۱۰،۱۱).

تارانولا کوبنسیس را از گونه عنکبوت میقالومورف (*mygalomorph*) که میقاله کوبنسیس، تارانولا کوبنسیس، عنکبوت قهوه‌ای و عنکبوت پر مو نیز می‌نامند^(۱۲). این عنکبوت بزرگ بومی کارولینای جنوبی، تگزاس و کوبا می‌باشد. رنگ قهوه‌ای تیره و بدنی پوشیده از مو دارد و در مقایسه با تارانولا هیسپانیکا (*Tarentula hispanica*) سمیت کمتری دارد. ترکیب اولیه عصاره از کل بدن این نوع عنکبوت استخراج می‌شود که پایه اصلی مواد آن آراکنید (*Arachnid*) می‌باشد^(۱۳). عنکبوت ابتدا له می‌شود و عصاره الکلی آن استخراج می‌گردد و به شکل تجاری با نام ترانکرون به فروش می‌رسد. با جستجویی که در منابع و مقالات انجام گرفت از ترانکرون در ترمیم تاندون استفاده شده است^(۱۳)، ولی تاکنون در ترمیم استخوان اثرات آن بررسی نشده است. هدف از مطالعه حاضر ارزیابی خواص استخوان‌سازی استفاده توام هیدروکسی آپاتایت (به‌عنوان هادی استخوان‌سازی) و ترانکرون در التیام نقیصه استخوانی در خرگوش می‌باشد.

مواد و روش‌ها

مطالعه حاضر در دانشگاه شهرکرد دانشکده دامپزشکی و بخش جراحی و رادیولوژی در تاریخ اردیبهشت ماه ۱۳۹۶ انجام گرفت.

تهیه ترانکرون

ترانکرون (شرکت تولید کننده داروپخش، ایران) به شکل تجاری و محلول در الکل و با دوز یک میلی‌گرم بر کیلوگرم در دسترس می‌باشد.

ارزیابی بالینی

هر روز خرگوش‌ها مورد مطالعه و مشاهده قرار گرفت و از نحوه استفاده از دست، وزن گذاری اطلاع کسب شد. هرگونه زخم‌های موضعی، التهاب و یا عدم ترمیم موردتوجه قرار گرفت.

ارزیابی رادیوگرافیکی

رادیوگراف‌ها از دست خرگوش‌ها بعد از عمل و در روزهای ۱۴، ۲۸، ۴۲ و ۵۶ در نمای جانبی تهیه شد. فاصله فیلم از منبع اشعه X حدود ۷۰ سانتی‌متر و دستگاه رادیوگرافی با ۴۵ کیلوولت (KV) و ۲۰ میلی‌آمپر بر ثانیه (mAs) تنظیم شد. برای ارزیابی و درجه‌بندی رادیوگراف‌های تهیه شده از سیستم درجه‌بندی تغییر شکل یافته «لن»^۱ و «سندا»^۱ و استفاده گردید که به شرح زیر است (جدول ۱).

جدول ۲: سیستم درجه‌بندی برای هیستوپاتولوژی به روش

امری

درجه‌بندی	بافت
۰	خالی
۱	فقط بافت فیروز
۲	بافت فیروز بیشتر از بافت فیبروکارتیلیج
۳	بافت فیبروکارتیلیج بیشتر از بافت فیروز
۴	فیبروکارتیلیج
۵	بافت فیبروکارتیلیج بیشتر از بافت استخوانی
۶	بافت استخوانی بیشتر از بافت فیبروکارتیلیج
۷	بافت استخوانی

جدول ۱: سیستم درجه‌بندی برای رادیوگراف‌ها به روش تغییر شکل یافته Lane و Sandhu⁽¹⁴⁾.

درجه	(Bone formation) شکل‌گیری استخوان
۰	هیچ نشانه‌ای از شکل‌گیری استخوان
۱	شکل‌گیری استخوان و پر شدن ۲۵٪ نقیصه
۲	شکل‌گیری استخوان و پر شدن ۵۰٪ نقیصه
۳	شکل‌گیری استخوان و پر شدن ۷۵٪ نقیصه
۴	شکل‌گیری استخوان و پر شدن ۱۰۰٪ نقیصه
Union جوش خوردگی (فوقانی و تحتانی)	
۰	عدم جوش خوردگی
۱	احتمالاً جوش خوردگی
۲	جوش خوردگی کامل
Remodeling بازسازی	
۰	هیچ نشانه‌ای از بازسازی
۱	نشانه‌های ضعیف بازسازی
۲	بازسازی کامل

تجزیه و تحلیل آماری

ابتدا نتایج به‌دست‌آمده به‌وسیله‌ی آزمون آماری Kruskal-Wallis non parametric ANOVA مورد تجزیه و تحلیل آماری قرار گرفت، زمانی که ارزش P کمتر از ۰/۰۵ شد، دوباره با آزمون آماری Mann-Whitney U test مورد تجزیه و تحلیل آماری قرار می‌گرفتند. در این آزمون اگر مقادیر کمتر از ۰/۰۵ ($P < 0/05$) شدند، از نظر آماری معنی‌دار تلقی شدند. برای انجام تست‌های آماری از نرم‌افزار SPSS version 16 (SPSS, Inc, Chicago, USA) استفاده شد.

یافته‌ها

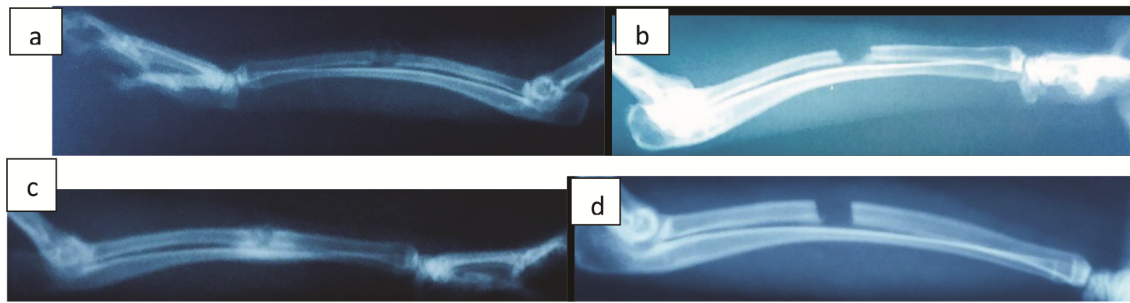
ارزیابی بالینی

تمامی خرگوش‌ها بعد از انجام عمل جراحی، بازگشت از بیهوشی بسیار آرامی داشتند. در ناحیه جراحی تورم، التهاب، عدم توانایی در وزن‌گذاری و لنگش مشاهده گردید. تا روز هفتم بعد از عمل، التهاب و تورم موضع عمل و تا روز دهم، لنگش خرگوش‌ها برطرف شد. در ضمن هیچ‌گونه عفونت موضعی و سیستمیک در هیچ‌یک از خرگوش‌ها دیده نشد.

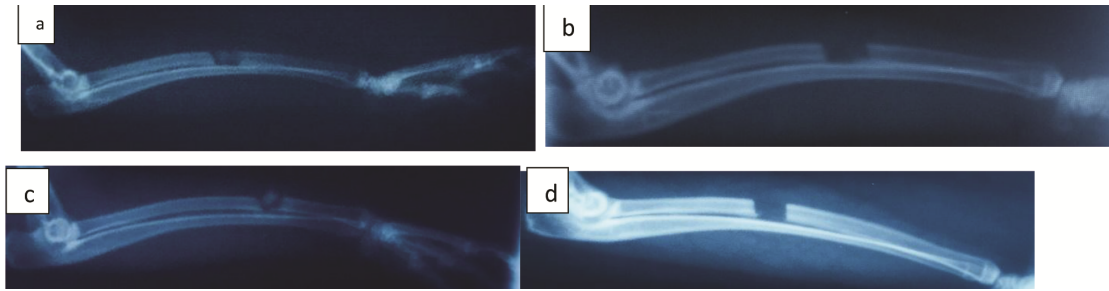
بررسی هیستوپاتولوژیکی

به مدت ۸ هفته خرگوش‌ها نگهداری شده و به روش انسانی معدوم شدند و نمونه‌برداری برای بررسی هیستوپاتولوژیکی انجام گردید. در ارزیابی هیستوپاتولوژیکی از روش اسکوربندی التیام استخوان Emery et al 1994 استفاده شد^(۱۵).

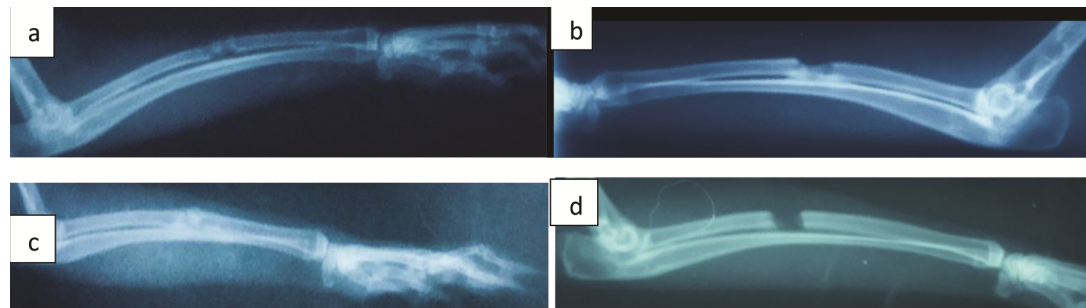
در روز ۵۶ تمامی خرگوش‌ها به‌روش انسانی پس از القای بیهوشی با تزریق سولفات منیزیم زیاد به شکل تزریق داخل



شکل ۱. رادیوگراف‌های هفته دوم: (a) گروه هیدروکسی آپاتیت، (b) گروه ترانکرون، (c) گروه هیدروکسی آپاتیت-ترانکرون، (d) گروه کنترل خالی



شکل ۲. رادیوگراف‌های هفته چهارم: (a) گروه هیدروکسی آپاتیت، (b) گروه ترانکرون، (c) گروه هیدروکسی آپاتیت-ترانکرون، (d) گروه کنترل خالی



شکل ۳. رادیوگراف‌های هفته هشتم: (a) گروه هیدروکسی آپاتیت، (b) گروه ترانکرون، (c) گروه هیدروکسی آپاتیت-ترانکرون، (d) گروه کنترل خالی

جدول ۳: بررسی مقایسه‌ای ارزیابی رادیوگرافی بین گروه‌ها در هفته‌های مختلف (Median (minimum-maximum) براساس Sandhu و Lane)

P^a	گروه هیدروکسی آپاتیت-ترانکرون	گروه هیدروکسی آپاتیت	گروه خالی	گروه ترانکرون	گروه هفته
0/4	1(1-2)	2(0-2)	1(0-1)	1(1-2)	هفته دوم
0/04	6(4-9)	5(3-9)	1(0-5) ^g	5(2-9) ^g	هفته چهارم
0/002	10(10-12)	5(3-10) ^f	1(0-5) ^g	9(4-9) ^h	هفته ششم
0/007	10(10-12)	8(4-10)	1(0-8) ^g	8(1-8)	هفته هشتم

a آنالیز آماری Kruskal- Wallis non parametric ANOVA انجام شد و زمانی که بعد از آن اختلاف معناداری بین گروه‌ها در نظر گرفته شد (ارزش p کمتر از ۰/۰۵ بود) و تست تکمیلی Mann Withney U test انجام گرفت.

b اختلاف معناداری بین گروه ترانکرون و گروه خالی در هفته چهارم ($p=0/04$) و هفته ششم ($p=0/008$) مشاهده شد.

c در هفته ششم ($p=0/006$) و هفته هشتم ($p=0/005$) اختلاف معناداری بین گروه ترانکرون و گروه هیدروکسی آپاتیت-ترانکرون مشاهده شد.

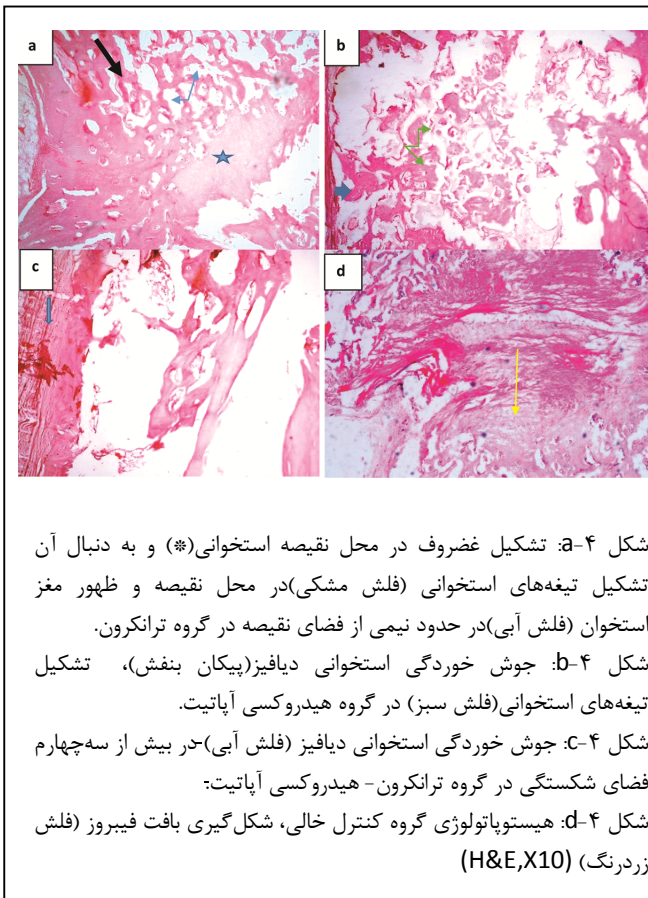
d گروه کنترل خالی اختلاف معناداری با گروه هیدروکسی آپاتیت در هفته‌های چهارم ($p=0/04$) و هفته شش ($p=0/03$) و هفته هشتم ($p=0/04$) نشان داد.

e گروه کنترل خالی به شکل معناداری با گروه هیدروکسی آپاتیت-ترانکرون در هفته‌های چهارم ($p=0/02$) و در هفته شش ($p=0/007$) و هفته هشتم ($p=0/005$) اختلاف معناداری داشت.

f گروه هیدروکسی آپاتیت به شکل معناداری با گروه هیدروکسی آپاتیت-ترانکرون در هفته ششم ($p=0/03$) اختلاف معناداری داشت.

ارزیابی رادیوگرافیکی

هیدروکسی آپاتیت-ترانکرون اختلاف معناداری وجود نداشت. بین گروه هیدروکسی آپاتیت با گروه ترانکرون ($p=0/05$) اختلاف معناداری وجود داشت و بین گروه هیدروکسی آپاتیت با گروه کنترل خالی ($p=0/05$) اختلاف معناداری وجود داشت. بین گروه هیدروکسی آپاتیت-ترانکرون با گروه ترانکرون ($p=0/03$) اختلاف معناداری وجود داشت. بین گروه هیدروکسی آپاتیت-ترانکرون با گروه کنترل خالی ($p=0/03$) اختلاف معناداری وجود داشت.



ارزیابی رادیوگرافیکی روند التیام در خرگوش‌ها در چهار گروه هیدروکسی آپاتیت، ترانکرون، کنترل خالی و ترانکرون-هیدروکسی آپاتیت و در روزهای ۱۴، ۲۸، ۴۲ و ۵۶ بعد از عمل انجام شد. درجه‌بندی از نظر شکل‌گیری استخوان، میزان جوش‌خوردگی فوقانی و تحتانی و شکل‌پذیری دوباره استخوان (بازسازی) صورت گرفت (شکل‌های ۱، ۲، و ۳ جدول ۳).

نتایج رادیوگرافی فوق با استفاده از نرم‌افزار SPSS و به‌وسیله آزمون آماری Kruskal – Wallis non parametric ANOVA به‌دست‌آمده که با توجه به نتایج آزمون به معنادار بودن آن پی‌می‌بریم. با توجه به اینکه ($P^a < 0/05$) شد، آزمون آماری Mann Withney U test انجام شد.

نتایج به دست آمده از هیستوپاتولوژی نمونه‌ها

۵۶ روز بعد از عمل، استخوان رادیوس خارج شد و نمونه‌های جداشده، جهت ارزیابی هیستوپاتولوژی به آزمایشگاه ارجاع داده شدند. و براساس سیستم درجه‌بندی التیام استخوان امری مورد ارزیابی قرار گرفتند^(۱). در ارزیابی هیستوپاتولوژی هیچ‌گونه نشانه‌ای از التهاب و عفونت در هیچ‌کدام از خرگوش‌ها مشاهده نشد. آنالیز آماری یافته‌های هیستوپاتولوژی نمونه‌ها بررسی شده است (شکل ۴، جدول ۴).

جدول ۴: نتایج به‌دست‌آمده از ارزیابی هیستوپاتولوژی

Median (minimum-maximum)				
P^a	ترانکرون	ترانکرون - هیدروکسی آپاتیت	هیدروکسی آپاتیت	کنترل خالی
۰/۰۵	۵(۲-۶) ^c	13(۱۱-۱۴)	۱۳(۹-۱۴)	۱(۰-۳) ^b

بحث

گروه هیدروکسی آپاتیت نسبت به گروه کنترل خالی اختلاف معناداری وجود داشت و بهتر از گروه خالی عمل کرده بود. در مطالعه‌ای در سال ۲۰۰۸ هم تایید کننده نقش مهم هیدروکسی آپاتیت در تسریع ترمیم استخوان است که در این مطالعه به دلایل مختلف آن اشاره شده است. هیدروکسی باعث افزایش تشکیل عروق جدید در محل نقیصه می‌شود. پیشنهاد شده که مناطق تکه تکه تکه هیدروکسی به تهاجم مستقیم عروق تشکیل‌شده جدید به داخل مواد معدنی اجازه می‌دهد. همچنین

Kruskal- Wallis non parametric ANOVA-a
b- گروه کنترل خالی با گروه هیدروکسی آپاتیت و گروه هیدروکسی آپاتیت-ترانکرون اختلاف معناداری داشت.
c- گروه ترانکرون با گروه هیدروکسی آپاتیت و گروه هیدروکسی آپاتیت-ترانکرون اختلاف معناداری داشت.

نتایج هیستوپاتولوژی همچون نتایج رادیولوژیک با آزمون Kruskal – Wallis non parametric ANOVA و نتایج تکمیلی نیز با استفاده از آزمون آماری Mann - Withney U test به دست آمد. که طبق این آزمون بین گروه هیدروکسی آپاتیت و

به‌طور معناداری نسبت به گروه کنترل کمتر و سطح کلاژن به‌طور معناداری بیشتر است. همچنین مشاهدات هیستوپاتولوژی به افزایش آنژیوژنز گرانولوما اشاره کرده است که همین کاهش سلول‌های التهابی که باعث کاهش التهاب موضع و در نتیجه کاهش فاز التهابی و تسریع روند ترمیم می‌شود همچنین سطح کلاژن هم که بیشتر است با توجه به اینکه کلاژن در ساختار استخوان و روند ترمیم مورد استفاده قرار می‌گیرد، این افزایش سطح کلاژن و همچنین تجمع کلاژن و افزایش ضخامت آن می‌تواند روند ترمیم را تسریع ببخشد. همچنین در بررسی‌های هیستوپاتولوژیکی گروه ترانکرون بهبود قابل‌توجهی در آنژیوژنز، اپیتلیزاسیون دوباره و واکنش‌های التهابی کمتر در مقایسه با گروه کنترل نشان داده شده است. همچنین کاهش التهاب و افزایش کیفیت و میزان اپیتلیزاسیون دوباره زخم در گروه ترانکرون در مقایسه با گروه کنترل مشاهده گردید. مقدار کلاژن هم در گروه ترانکرون نسبت به گروه کنترل به‌صورت معناداری بیشتر بود که تمامی این خواص می‌تواند به تسریع روند ترمیم استخوان کمک کننده باشد^(۱۷).

در مطالعه عربان و همکاران که در سال ۲۰۱۴ انجام گرفت در عکس‌های رادیوگرافی و بررسی‌های هیستوپاتولوژی مشخص شده است که نقیصه در گروه خالی و نرمال سالین با بافت فیبروزه پر شده است. به همین دلیل است که وقتی نقیصه استخوانی با بافت فیبروزه پر می‌شود دیگر اجازه شکل‌گیری استخوان با پر شدن توسط بافت فیبروزه داده نمی‌شود به همین علت است که در گروه ترانکرون چون که بافت فیبروزه کمتری با توجه به خواص ترانکرون تشکیل می‌شود پس در گروه ترانکرون سرعت شکل‌گیری استخوان بیشتر است^(۱۸).

در مطالعه عربان و همکاران در سال ۲۰۱۲ که روی تاندون‌های آسیب دیده بود نشان داده شده که ترانکرون باعث کاهش التهاب و در نتیجه فاز التهابی را کاهش می‌دهد و فیبروپلیژیا و بافت اسکار بازاریابی را در طول ترمیم تاندون تحریک می‌کند که چنین معیارهایی ممکن است ویژگی‌های عملکردی و ساختاری تاندون‌های آسیب‌دیده را بهبود ببخشد. در مقایسه اثرات ترانکرون بر روی ترمیم تاندون نسبت به گروه کنترل در کل پارامترهای بیومکانیکی در گروه درمان شده با ترانکرون در مقایسه با گروه کنترل بهبود پیدا کرده بود. همچنین توان نهایی (قدرت کششی) تاندون آسیب‌دیده که با ترانکرون درمان شده بود در مقایسه با تاندون‌های سالم اندام‌های دیگر، ۶۴٪ قدرت نهایی خود را دوباره به دست آوردند و ۱۶۴٪ قدرت نهایی نسبت به تاندون آسیب‌دیده گروه کنترل بهبود بیشتری داشتند

در نقیصه پر شده با هیدروکسی آپاتیت مراحل آنژیوژنیک جوانه‌ای و غیر جوانه‌ای را توانستند نشان دهند. همچنین نشان دادند که گروه هیدروکسی آپاتیت عروق باعث شکل گیریمناطق شبه سینوزویدی تا چهار برابر ضخامت عروق نسبت به گروه کنترل خالی ایجاد می‌کند^(۱۶).

در مطالعه میمندی پاریزی و همکاران در سال ۲۰۱۳ هم ثابت کننده نقش مهم هیدروکسی آپاتیت در تسریع ترمیم استخوان است که مؤید معنادار بودن گروه هیدروکسی آپاتیت نسبت به گروه کنترل خالی است. چونکه کلسیم و فسفات از اجزای معدنی مهم استخوان هستند و هیدروکسی آپاتیت ترکیبی از این دو هست. همچنین به تشکیل فیزیولوژیکی ناحیه درمان شده، کمک می‌کند ولی اثر آن در رشد درونی استخوان هنوز معلوم نیست. همچنین در این مطالعه تشکیل قابل توجه تشکیل استخوان جدید در گروه هیدروکسی آپاتیت نسبت به گروه کنترل منفی را نشان دادند. همچنین از دلایل دیگر تسریع بخشی هیدروکسی آپاتیت در این مطالعه اشاره شده که هیدروکسی آپاتیت با مکانیسم ایجاد ساختار مکانیکی سفت و محکم در محل شکستگی و داشتن خاصیت هدایت استخوان‌سازی و عروق زایی باعث تسریع ترمیم شکستگی می‌شود. نشان داده شده است که اگر شکاف شکستگی بزرگ باشد هیدروکسی آپاتیت اثری در پر شدن نقیصه ندارد و با تشکیل بافت فیبروزه یا بافت فیبرینی-غضروفی مانع پر شدن بافت استخوان می‌شود. در لبه‌های شکستگی که استخوان تماس مستقیم با هیدروکسی آپاتیت دارد در این نواحی تشکیل استخوان جدید مشاهده شده است که این اثر osteoconductive هیدروکسی آپاتیت را تأیید می‌کند اگرچه این تشکیل استخوان جدید در لبه‌ها برای پر شدن محل نقیصه و متصل شدن دو طرف شکستگی به همدیگر ناکافی هست^(۴).

در یک مطالعه در سال ۲۰۱۰ ثابت کردند که هیدروکسی آپاتیت به‌واسطه‌ی یون‌های فسفر و کلسیم آن محیط معدنی‌ای را در استخوان می‌تواند فراهم کند که می‌تواند باعث سرعت بخشیدن به متابولیسم استخوان، تمایز استئوبلاست‌ها و سنتز کلاژن شود و همچنین این پوشش هیدروکسی آپاتیت به‌طور قابل‌توجهی باعث سرعت بخشیدن به مراحل ترمیم نواقص استخوانی و همچنین بهبود سطح بیواکتیویته فیبر کربنی شود^(۳).

گروه ترانکرون نسبت به گروه کنترل خالی اختلاف معناداری وجود داشت. در این رابطه و تأثیر ترانکرون تحقیقات مختلفی انجام شده است. مطالعه ادیب هاشمی و همکاران در سال ۲۰۱۵ بیانگر این است که سلول‌های التهابی گروه درمان با ترانکرون،

کلینیکی و شمارش لوکوسیت ها دیده نمی‌شود و فقط در شمارش لنفوسیت‌ها به‌طور معناداری تغییر مشاهده می‌شود^(۲۰). آلبای و همکاران در سال ۲۰۱۰ هم با بررسی ترانکرون بر روند التیام زخم در بیماری زبان آبی به اثر آن بر روی روند بهبود ترمیم مخاطات توسط ترانکرون پی بردند^(۲۱). گولتیکن و همکاران در سال ۲۰۱۵ به اثر ترانکرون در کنترل رشد سلول‌های اندوکارسینومای پستانی سگ با کنترل آپوتوز این سلول‌ها توسط ترانکرون پی بردند^(۲۲). لطف‌الله زاده و همکاران در سال ۲۰۱۲ به اثر ترانکرون در ترمیم زخم‌های حاصل از این بیماری در مخاطات و همچنین به کاهش دمای بدن حیوانات تبار تحت درمان با ترانکرون پی برده بودند^(۲۱). دولاپسیگلو و همکاران در سال ۲۰۱۳ با مقایسه کردن اثرات درمانی مدروکسی پروژسترون استات و لتیوپرولاید استات و ترانکرون باهم در نمونه رت آزمایشگاهی که دچار اندومتريت بودند به این نتیجه دست یافتند که درمان اندومتريت با ترانکرون کانون‌های اندومتريت و آسیب‌های پاتولوژی کمتری نسبت به درمان با دو ماده دارویی دیگر دارد ولی سرعت بازگشت کانون‌های اندومتريت در نمونه‌های درمان شده با ترانکرون سریع‌تر اتفاق افتاد^(۲۲). می و همکاران در سال ۱۹۷۶ بر این عقیده هستند که ترانکرون باعث رهاسازی مسریشن پپتیدهایی که مسئول مشخص کردن بافت فیروزه هستند، می‌شود^(۲۳). در مطالعه قاسمی و همکاران در سال ۲۰۱۷ به این نتیجه رسیدند که ترانکرون به‌طور قابل توجهی بر روی فعالیت کاسپیز ۳ اثر می‌کند که این کاسپیز ۳ خود باعث تکه‌تکه شدن DNA در داخل سلول و درنهایت باعث تحریک مرگ سلول می‌شود. همچنین ترانکرون باعث افزایش بیش‌ازحد آپوتوز و درنهایت تحریک مرگ سلولی می‌شود^(۲۴). نای گول ستار و همکاران در سال ۲۰۱۷ اثرات ترانکرون را بر روی زخم‌های باز در رت بررسی کردند که به این نتیجه رسیدند که ترانکرون اثرات قابل توجهی بر روی انقباض زخم دارد و با تشکیل بافت گرانولیشن قابل توجه به ترمیم زخم کمک می‌کند^(۲۵).

گروه هیدروکسی آپاتیت-ترانکرون نسبت به گروه کنترل خالی اختلاف معناداری وجود داشت همچنین این گروه عملکرد بهتری نسبت به تمام گروه‌ها داشت چونکه اولاً در گروه کنترل خالی، تشکیل بافت فیبرینی در محل نقیصه مانع پر شدن آن توسط استخوان می‌شود. ولی در گروه هیدروکسی آپاتیت-ترانکرون، ترانکرون با کاهش تولید بافت فیروزه، کاهش التهاب و کاهش تولید سلول‌های التهابی، افزایش آنژیوژنز گرانولوما، تجمع کلاژن‌ها و افزایش ضخامت کلاژن‌ها باعث تسریع ترمیم

که این اثرات سودمند ممکن است به علت اثرات کاهش التهاب ترانکرون بر روی پروسه‌های التهاب و همچنین اثرات نکروزیز و فیبروپلاژیا ترمیم پس از جراحی باشد. پس از پارگی تاندون پروسه التهاب شروع می‌شود و سلول‌های التهابی به محل آسیب مهاجرت می‌کنند. سیتوکاین‌ها و متالوپروتئینازهای ماتریکس مانند: کاتپسین، کلاژناز و الاستاز توسط سلول‌های التهابی و سلول‌های آسیب‌دیده مقیم آزاد می‌شوند. بنابراین بیشتر کلاژن‌های سالم و ساختارهای ماتریکس در فاز التهابی ترمیم توسط سلول‌های التهابی و متالوپروتئینازهای ماتریکس تحت تأثیر قرار می‌گیرند. رخداد این تغییرات ساختاری تخریبی توسط فاگوسیتوزیز سلول‌های التهابی و فعالیت‌های لیز کننده متالوپروتئینازهای ماتریکس قدرت بیومکانیکال محل آسیب‌دیده تاندون را کاهش می‌دهد. عملکرد ساختاری و بیومکانیکال تاندون آسیب‌دیده درمان شده با ترانکرون در مقایسه با گروه کنترل به‌طور قابل توجهی بهبود یافته بود که ممکن است به علت حفظ کلاژن‌های فیبرینی اصلی (اولیه) در محل آسیب باشد. فیبریل‌های محافظت‌شده امکان دارد به‌عنوان یک داربست برای پیوند بافتی در طول پروسه‌های بعدی فیبروپلیژیا و بازآرایی اولیه، مشابه آنچه که توسط ایمپلنت‌های فیبری سنتتیک که در ترمیم تاندون استفاده می‌شود، عمل می‌کند. همچنین ممکن است ترانکرون در تجمع کلاژن و تبدیلیشان به فیبریل‌های با ضخامت بیشتر نقش داشته باشد. بنابراین، حفاظت از فیبریل‌های موجود و افزایش رشد فیبریل‌های جدید، فیبریل‌های کلاژنی با ضخامت بیشتر بر سرعت بخشیدن به بلوغ دلالت می‌کند و ممکن است باعث عملکرد و ساختار بهتر تاندون‌های آسیب‌دیده درمان شده با ترانکرون نسبت به گروه کنترل شود. اثرات کاهش التهابی که ترانکرون بر روی التهاب دارد باعث می‌شود که بافت آسیب‌دیده از تخریب بیشتر محافظت شود و بلوغ بافتی افزایش یابد. گروه ترانکرون همچنین اثرات بهتری روی وزن گیری و توانایی حرکت و کاهش تورم بافتی در تمامی هفته‌ها داشت که این بهبود می‌تواند به علت کاهش چسبندگی، ادم، نکروز، لنگش و همچنین اثرات تسکین درد ترانکرون می‌تواند نسبت داد^(۱۹).

آلبی و همکاران در سال ۲۰۱۰ با بررسی اثر ترانکرون بر روی زخم‌های دهانی حاصل از بیماری زبان آبی در گاوها به این نتیجه رسیدند که اثر این دارو در کوتاه‌مدت (۲۴ ساعت بعد) باعث بهبود اشتها و غذای دریافتی و کاهش التهاب زخم‌های دهانی به همراه کاهش لوکوسیت‌ها و لنفوسیت‌ها در تابلوی خونی می‌شود در صورتی که بعد از ۱۰ روز تغییری در علائم

نسبت به هر گروه به تنهایی را داریم چونکه ما در این گروه هر دو خواص تسریع کنندگی استخوان را با هم در یک گروه داریم. گروه کنترل خالی از بقیه گروه‌ها عملکرد ضعیف‌تری داشت چونکه ما در این گروه از هیچ ماده یا ترکیب تسریع کننده ترمیم استخوان استفاده نکردیم همچنین در این گروه به علت تشکیل بافت فیبروزه در محل نقیصه، این بافت فیبروزه در روند استخوان سازی اختلال ایجاد کرده و مانع پر شدن محل نقیصه با بافت استخوان می شود.

در مجموع مطالعه حاضر نشان داد گروه ترانکرون و ترانکرون هیدروکسی آپاتیت در مقایسه با دو گروه دیگر از نظر ترمیم استخوانی بهتر عمل می کنند.

تضاد منافع

تمامی نویسندگان بدینوسیله تایید می کنند که هیچگونه تضاد منافی در این مطالعه ندارند.

منابع

1. **Bigham-Sadegh A, Oryan A.** 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* 2015;56:175-194.
2. **Dorea HC, McLaughlin RM, Cantwell HD, et al.** Evaluation of healing in feline femoral defects filled with cancellous autograft, cancellous allograft or Bioglass. *Vet Comp Orthop Traumatol* 2005;18:157-168.
3. **Gleeson JP, Plunkett NA, O'Brien FJ.** Addition of hydroxyapatite improves stiffness, interconnectivity and osteogenic potential of a highly porous collagen-based scaffold for bone tissue regeneration. *Eur Cell Mater* 2010;20:218-230.
4. **Parizi AM, Oryan A, Shafiei-Sarvestani Z, et al.** Effectiveness of synthetic hydroxyapatite versus Persian Gulf coral in an animal model of long bone defect reconstruction. *Journal of Orthopaedics and Traumatology* 2013;14:259-268.
5. **Stampa S.** A field trial comparing the efficacy of sulphamonomethoxine, penicillin, and tarantula poison in the treatment of

استخوان می شود اثرات دمارکتیو و نکروتیزینگ ترانکرون می تواند باعث جداسازی بافت مرده از زنده و در سطح سلولار تشدید تمایز می گردد. «می» و همکاران در سال ۱۹۷۶ بر این عقیده هستند که ترانکرون باعث راهسازی مسریشن پپتیدهایی که مسئول مشخص کردن بافت فیبروزه هستند، می شود. هیدروکسی آپاتیت هم با افزایش عروق زایی و افزایش ضخامت عروق، وجود کلسیم و فسفر در ساختارش، به عنوان یک داربست در محل نقیصه برای استخوان سازی عمل کردن، باعث تسریع معنادار ترمیم استخوان می شود.

بیغم و همکاران در یک مطالعه به این نتیجه رسیدند که گروه ترکیب هیدروکسی آپاتیت و پودر صفحه رشد نسبت به هیدروکسی آپاتیت و پودر صفحه رشد تنها اثر بهتری روی ترمیم نقیصه استخوانی داشت. این مطالعه هم تایید کننده کار ما هست که ترکیب هیدروکسی آپاتیت با سایر تسریع کننده‌های ترمیم استخوان، نتیجه بهتری می دهد. در نتیجه این ویژگی‌های تسریع ترمیم استخوان که برای ترانکرون و هیدروکسی آپاتیت آورده شده است چون که در این گروه ما از هر دو استفاده کرده‌ایم بنابراین انتظار تسریع ترمیم بهتری

pododermatitis circumscripta of cattle. *Journal of the South African Veterinary Association* 1986;57:91-93.

6. **Gültiken N, Vural MR.** The effect of Tarantula cubensis extract applied in pre and postoperative period of canine mammary tumours. *JIVS* 2007;2:13-23.

7. **Muste A, Oana L, Beteg F, et al.** Morphoclinical aspects in tarsal bursitis in cattles; surgical and medicamentous treatment. *Bulletin of University of Agricultural Sciences and Veterinary Medicine Cluj-Napoca Veterinary Medicine* 2008;65.

8. **Sardari K, Kakhki EG, Mohri M.** Evaluation of wound contraction and epithelialization after subcutaneous administration of Theranekron® in cows. *Comparative Clinical Pathology* 2007;16:197-200.

9. **Albay MK, İahinduran İ, Kale M, et al.** Influence of Tarantula cubensis extract on the treatment of the oral lesions in cattle with bluetongue disease. 2010;16:593-596.

10. **Kacar C, Zonturlu AK, Oral H, et al.** The effects of Theranekron (R) application on uterus involution and vaginal efluence in cows early

puerperal period. *KAFKAS UNIVERSITESI VETERINER FAKULTESI DERGISI* 2007;13:11-15.

11. **Cam Y, Kibar M, Atasever A, et al.** Efficacy of levamisole and Tarantula cubensis venom for the treatment of bovine cutaneous papillomatosis. *Veterinary record* 2007;160:486-488.

12. **Richardson-Boedler C.** The brown spider *Loxosceles laeta*: source of the remedy Tarentula cubensis? *Homeopathy* 2002;91:166-170.

13. **Oryan A, Moshiri A, Raayat AR.** Novel application of Theranekron[®] enhanced the structural and functional performance of the tenotomized tendon in rabbits. *Cells Tissues Organs* 2012;196:442-455.

14. **Lane JM, Sandhu H.** Current approaches to experimental bone grafting. *The Orthopedic clinics of North America* 1987;18:213-225.

15. **Emery SE, Brazinski MS, Koka A, et al.** The biological and biomechanical effects of irradiation on anterior spinal bone grafts in a canine model. *JBJS* 1994;76:540-548.

16. **Kilian O, Wenisch S, Karnati S, et al.** Observations on the microvasculature of bone defects filled with biodegradable nanoparticulate hydroxyapatite. *Biomaterials* 2008;29:3429-3437.

17. **Adib-Hashemi F, Farahmand F, Hesari SF, et al.** RETRACTED ARTICLE: Anti-inflammatory and protective investigations on the effects of Theranekron[®] an alcoholic extract of the Tarantula cubensis on wound healing of peritoneal in the rat: an in vivo comparative study. *Diagnostic pathology* 2015;10.

18. **Oryan A, Bigham-Sadegh A, Abbasi-Teshnizi F.** Effects of osteogenic medium on

healing of the experimental critical bone defect in a rabbit model. *Bone* 2014;63:53-60.

19. **Oryan A, Moshiri A, Raayat AR.** Novel application of Theranekron[®] enhanced the structural and functional performance of the tenotomized tendon in rabbits. *Cells Tissues Organs* 2012;196:442-455.

20. **Albay MK, Şahinduran Ş, Kale M, et al.** Influence of Tarantula cubensis extract on the treatment of the oral lesions in cattle with bluetongue disease. 2010.

21. **Lotfollahzadeh S, Alizadeh MR, Mohri M, et al.** The therapeutic effect of Tarentula cubensis extract (Theranekron[®]) in foot-and-mouth disease in cattle: a randomised trial in an endemic setting. *Homeopathy* 2012;101:159-164.

22. **Dolapcioglu K, Dogruer G, Ozsoy S, et al.** Theranekron for treatment of endometriosis in a rat model compared with medroxyprogesterone acetate and leuprolide acetate. *European Journal of Obstetrics & Gynecology and Reproductive Biology* 2013;170:206-210.

23. **May J.** Treatment of panaritium in cattle with theranekron. *Wien Tierärztl Monatsschr* 1976;6:228-231.

24. **Ghasemi-Dizgah A, Nami B, Amirmozafari N.** Tarantula cubensis venom (Theranekron[®]) selectively destroys human cancer cells via activating caspase-3-mediated apoptosis. *Acta Medica International* 2017;4:74.

25. **Gul Satar N, Cangul I, Topal A, et al.** The effects of Tarantula cubensis venom on open wound healing in rats. *Journal of Wound Care* 2017;26:66-71.