

اثر عصاره هیدرو الکی ترانکولا کوپن سیس بر ترمیم شکستگی استخوان رادیوس در خرگوش

چکیده

پیش‌زمینه: امروزه در ارتوپدی دامپزشکی و انسانی برای تحریک التیام شکستگی‌ها و سرعت بخشیدن به ترمیم نقیصه‌های استخوانی از پیوند استخوانی استفاده می‌شود. پیوندهای استخوان خودی هنوز هم به عنوان یک معیار طلایی در مقایسه با سایر عوامل تحریک‌کننده استخوان‌سازی مطرح هستند. پیوند استخوان پیوندی خودی (Autograft) علاوه بر مواد تحریک‌کننده التیام، حاوی سلول‌هایی است که واکنش‌های ایمنی را تحریک نمی‌کنند و باعث انتقال بیماری‌های مسری نمی‌شوند. 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 است. استفاده از تارانتولا کوپن سیس (Tarantula Cubensis) در ترمیم زخم گاو، در روز چهاردهم، باعث اپیتلیالیزاسیون مجدد و کاهش التهاب می‌شود و همچنین در کاهش عفونت نقش دارد چرا که ترانکرون (Theranekron) روند التهاب را تغییر می‌دهد. هدف از مطالعه حاضر بررسی استفاده از ترانکرون در ترمیم استخوان و بررسی روند التیام استخوان در خرگوش است.

مواد و روش کار: در این مطالعه از ۲۰ خرگوش نر در ۴ گروه ۵ تایی استفاده شد. قطعه استخوانی از استخوان رادیوس برداشته شد. در گروه اول در محل نقیصه، ترانکرون با دوز یک میکروگرم بر کیلوگرم تزریق شد. در گروه دوم، نرمال سالین در محل نقیصه تزریق شد. در گروه سوم (گروه کنترل منفی)، هیچ ماده‌ای تزریق نشد. در گروه چهارم (گروه اتوگرافت)، قطعه برش خورده در جای خود قرار گرفت و پوست و عضلات بخیه شدند. رادیوگراف از دست خرگوش‌ها، بعد از عمل و در روزهای ۱۴، ۲۸، ۴۲ و ۵۶ در نمای جانبی تهیه شد. نمونه‌برداری از استخوان برای ارزیابی هیستوپاتولوژی در هفته هشتم انجام گرفت. رادیوگراف‌ها و نمونه‌ها از لحاظ میزان جوش خوردگی، فعالیت استخوان‌سازی و دوباره شکل‌پذیری مورد بررسی آماری قرار گرفت.

یافته‌ها و نتیجه‌گیری: گروه ترانکرون تقریباً مانند گروه اتوگرافت عمل کرده بود و از گروه نرمال سالین و کنترل منفی عملکرد بهتری داشت. بنابراین، عصاره الکی ترانکولا کوپن سیس در ترمیم شکستگی استخوان مؤثر است.

واژگان کلیدی: ترمیم استخوان، خرگوش، زهر رطیل، شکستگی‌های رادیوس، عنکبوت‌ها

دریافت مقاله: ۶ ماه قبل از چاپ؛ مراحل اصلاح و بازنگری: ۲ بار؛ پذیرش مقاله: ۱ ماه قبل از چاپ

*دکتر سیاوش شریفی، **دکتر امین بیغم صادق، ***دکتر احمد عربان، ****دکتر یاسمین علوی

مقدمه

امروزه، در ارتوپدی دامپزشکی و انسانی برای تحریک التیام شکستگی‌ها و سرعت بخشیدن به ترمیم نقیصه‌های استخوانی از پیوند استخوانی استفاده می‌شود. پیوندهای استخوان خودی تازه، هنوز هم به عنوان یک معیار طلایی در مقایسه با سایر عوامل تحریک‌کننده استخوان‌سازی مطرح هستند. استخوان پیوندی خودی (Autograft)، علاوه بر مواد تحریک‌کننده التیام، حاوی سلول‌هایی است که واکنش‌های ایمنی را تحریک نمی‌کنند و باعث انتقال بیماری‌های مسری نمی‌شوند^(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 نیز از ستیغ ایلئوم استفاده 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 است^(۲). در حال حاضر، با توجه به مشکلاتی که پیوند استخوان خودی دارد، تمایل برای استفاده از پیوند استخوان غیرخودی مثل آلوگرافت و زنوگرافت بیشتر شده است. برای این پیوندها از نظر مقدار برداشت محدودیت وجود ندارد و به شکل مکانیکی یک داربست حمایتی را در شکاف‌های بزرگ استخوانی مثل برداشت تومورها و از دست رفتن بافت استخوانی تشکیل می‌دهد^(۳). با این حال، در استفاده از آلوگرافت‌ها خطر انتقال بیماری‌های مسری وجود دارد. تارانتولا کوپن سیس (Tarantula Cubensis) عصاره‌ای است که به شکل وسیعی در درمان تومورها، آبسه‌ها،

* استادیار، بخش جراحی و رادیولوژی دانشگاه شهرکرد
 ** استاد، بخش جراحی و رادیولوژی دانشگاه شهرکرد و استاد بخش جراحی و رادیولوژی دانشکده دامپزشکی دانشگاه شیراز.
 *** استاد، بخش پاتولوژی دانشگاه شیراز
 **** دامپزشک عمومی

نویسنده مسئول:
 دکتر امین بیغم صادق،

Email:
 dr.bigham@gmail.com

و محافظت از تهاجم ترانکرون در ترمیم زخم پریتونئال در رت بیان داشت که نتایج آزمایش های هیستوپاتولوژی نشانگر پیشرفت در رگ‌زایی، بازسازی اپیتلیال و پاسخ التهابی کمتر در مقایسه با گروه کنترل و همچنین مشاهده فیبرهای کلاژنی بالغ، موازی و متراکم بعد از ۲۹ روز بود^(۱۳). از آنجایی که ترانکرون روند التهاب را تغییر می‌دهد مطالعه حاضر برای ارزیابی اثرات آن در ترمیم استخوان طراحی شده است.

مواد و روش کار

برای این مطالعه ۲۰ خرگوش نر نژاد بومی به وزن تقریبی ۲ کیلوگرم و با سن ۱/۵ تا ۲ سال، برای عمل جراحی انتخاب شدند. به منظور عادت کردن خرگوش‌ها به شرایط جدید، آنها را به مدت ۱۵ روز، در قفس مخصوص قرار دادیم. خرگوش‌ها با خوراک مخصوص تغذیه شدند. تمامی شرایط نگهداری و تغذیه‌ای برای تمام خرگوش‌ها یکسان بود. خرگوش‌ها به صورت زیرجلدی، داروی ضد انگل آیورمکتین (Ivermectin) - تولید شرکت رویان دارو در ویال ۵۰ میلی‌لیتر) با دوز ۰/۲ میلی‌گرم بر کیلوگرم برای پاکسازی انگل‌های خارجی و انگل‌های داخلی از نوع کرم‌های گرد، دریافت کردند.

خرگوش‌ها به چهار گروه ۵ تایی تقسیم شدند. برای ۵ خرگوش گروه اول، در محل نقیصه، ترانکرون یک میلی‌گرم در میلی‌لیتر در نرمال سالین ۰/۹ درصد رقیق شده و با دوز یک میکروگرم بر کیلوگرم تزریق شد. تزریقات در روزهای ۳، ۵ و ۷ بعد از عمل صورت گرفت^(۱۴). برای ۵ خرگوش گروه دوم (گروه کنترل نرمال سالین)، محلول نرمال سالین و ترانکرون (ترانکرون تولید شرکت داروپخش در ویال ۵۰ میلی‌لیتر) طبق برنامه تزریق شد. در ۵ خرگوش گروه سوم، (گروه کنترل منفی)، هیچ ماده‌ای تزریق نشد و در ۵ خرگوش گروه چهارم (گروه اتوگرافت)، قطعه برش خورده سر جای خود قرار داده شد و پوست و عضلات بخیه و همگی در شرایط یکسان نگهداری شدند.

خرگوش‌ها با داروی آسه‌پرومازین (Acepromazine)، ساخت شرکت آلفاسان هلند، ویال ۱۰۰ میلی‌لیتر، ۲ درصد) با دوز ۰/۲ mg/kg آرام شدند و با ترکیب داروی کتامین (ساخت شرکت آلفاسان هلند، ویال ۱۰۰ میلی‌لیتر، ۱۰ درصد) به میزان ۳۰ mg/kg و داروی زایلازین (Xylazine، ساخت شرکت آلفاسان هلند، ویال ۵۰ میلی‌لیتر ۲ درصد) به میزان ۵ mg/kg و داروی دیازپام (ساخت شرکت کاسپین تامین ۲ میلی‌لیتر ۱۰ میلی‌گرم) به میزان ۴ mg/kg

سپتی‌سمی و بیماری‌های توکسمیک مورد استفاده قرار می‌گیرد^(۱۴). همچنین ادعا شده است که در ترمیم زخم گاو، در روز چهاردهم، باعث کاهش التهاب و اپیتلیالیزاسیون مجدد می‌شود^(۱۵). همچنین، بیان شده که این عصاره در کاهش سطح وسیعی از عفونت نقش دارد^(۱۶).

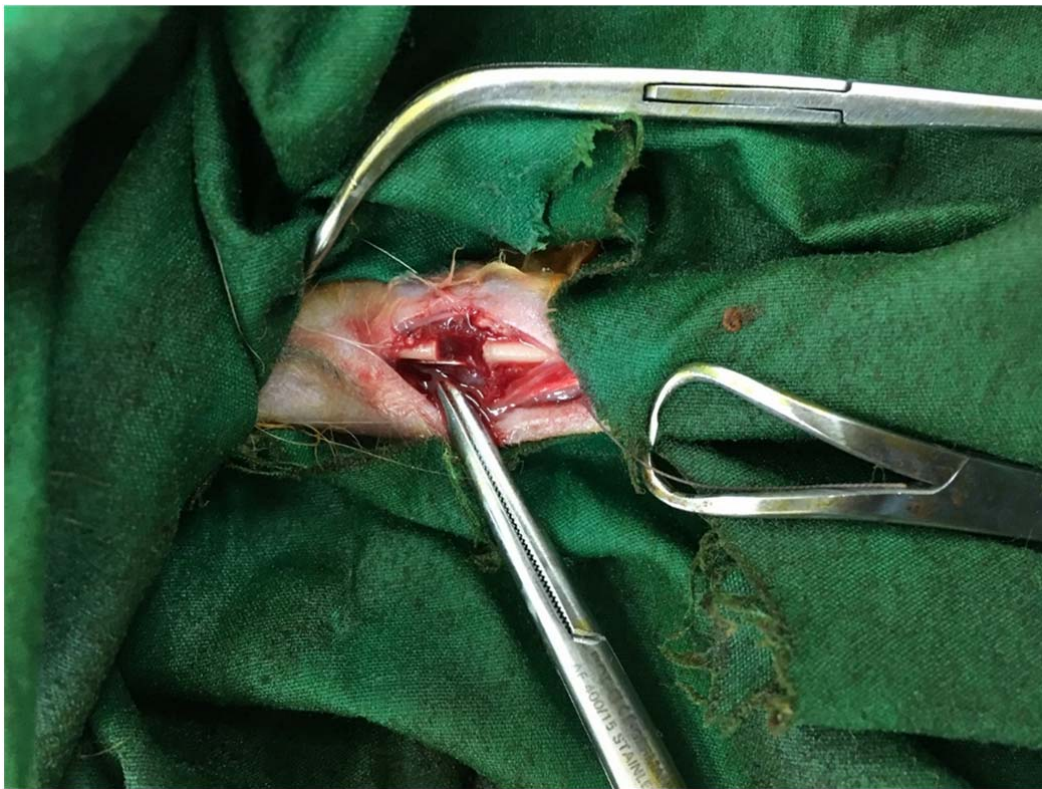
تارانئولا کوپن سیس از گونه‌ی عنکبوت میگالومورف (Mygalomorph) است که میگالو کوپن سیس، عنکبوت قهوه‌ای و عنکبوت پُرمو نیز نامیده می‌شود^(۱۱). این عنکبوت بزرگ، بومی کارولینای جنوبی، تگزاس و کوبا است. رنگ قهوه‌ای تیره و بدنی پوشیده از مو دارد و در مقایسه با تارانئولا هیسپانیکا (Tarentula hispanica) سمیت کمتری دارد. ترکیب اولیه‌ی عصاره از کل بدن این نوع عنکبوت استخراج می‌شود که پایه اصلی مواد آن را آراکنید (Arachnid) تشکیل می‌دهد^(۱۱). عنکبوت ابتدا له می‌شود، سپس، عصاره‌ی کللی آن استخراج می‌شود و به شکل تجاری با نام ترانکرون به فروش می‌رسد.

جم و همکاران در سال ۲۰۰۷، با بررسی اثر لوامیزول و ترانکرون در پاپیلومای پوستی به این نتیجه دست یافتند که لوامیزول تاثیر بیشتری در مقایسه با ترانکرون در درمان پاپیلومای پوستی دارد^(۱۷). گلتکین و وورا در سال ۲۰۰۷، با بررسی اثر ترانکرون بر روی تومورهای پستانی در سگ پی‌بردند که استفاده از ترانکرون در تومورهای خوش خیم باعث بهبود می‌شود^(۱۸).

آلبی و همکاران در سال ۲۰۱۰، با بررسی اثر ترانکرون بر روی زخم‌های دهانی حاصل از بلوتانگ در گاو‌ها، به این نتیجه رسیدند که اثر این دارو در کوتاه مدت (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 کلینیکی و شمارش لوکوسیت‌ها دیده نمی‌شود و فقط در شمارش لنفوسیت‌ها به طور معناداری تغییر مشاهده می‌شود^(۱۹).

سرداری و همکاران در سال ۲۰۱۱، در مطالعه‌ی تأثیر ترانکرون، بر هماتولوژی و خواص بیوشیمیایی سرم در اسب چنین نتیجه‌گیری کردند که بیشتر تغییرات مشاهده شده در پارامترهای هماتولوژی و بیوشیمیایی از نظر آماری معنادار است. و تجویز ترانکرون در اسب‌های مورد آزمایش هیچ‌گونه واکنش ناخواسته و منفی به دنبال نداشته است^(۲۰). عریان و همکاران در سال ۲۰۱۲، با بررسی اثر ترانکرون در تاندون آسیب‌دیده به بهبود پارامترهای بیومکانیکال در گروه درمان شده با ترانکرون پی‌برد^(۱۲). ادیب هاشمی در سال ۲۰۱۵، با بررسی اثر ضدالتهابی

تصویر ۱: ایجاد نقیصه‌های استخوانی جهت تزریق ترانکرون در موضع به وسیله اره برقی ارتوپدی



پی‌درپی بررسی می‌شد. همچنین، نحوه استفاده از دست، وزن‌گذاری، زخم‌های موضعی، التهاب و عفونت آنها مورد بررسی قرار می‌گرفت.

رادیوگراف‌ها از دست خرگوش‌ها بلافاصله بعد از عمل و در روزهای ۱۴، ۲۸، ۴۲ و ۵۶ در نمای جانبی تهیه شد. قابل ذکر است که فاصله فیلم از منبع اشعه X (دستگاه اشعه ایکس زیمنس آلمان) حدود ۷۰ سانتی‌متر و دستگاه رادیوگرافی با ۴۵ کیلو ولت (kV) و ۲۰ میلی‌آمپر بر ثانیه (mAs) تنظیم شده بود. برای ارزیابی و درجه‌بندی رادیوگراف‌های تهیه شده، با استفاده از سیستم درجه‌بندی تغییر شکل، در روز ۵۶، تمامی خرگوش‌ها پس از القای بیهوشی، به روش انسانی، با تزریق سولفات منیزیم زیاد به شکل تزریق داخل قلبی معدوم شدند. سپس استخوان رادیوس هر خرگوش جدا شد و تمامی بافت‌های نرم اطراف آن را از استخوان جدا کردیم.

استخوان‌های دارای نقیصه جهت ارزیابی هیستوپاتولوژی، در داخل فرمالین مرک ۱۰٪ (Merck®) قرار داده و به آزمایشگاه فرستاده شدند. نمونه‌ها به مدت ۲۴ ساعت، داخل فرمالین ۱۰٪ قرار گرفتند، سپس فرمالین تعویض شد و مجدداً تا زمان

به روش داخل عضلانی بیهوش شدند. دست راست آنها تراشیده شد و آماده‌سازی برای جراحی انجام گرفت. بعد از شان‌گذاری، 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. دو برش به وسیله اره برقی ارتوپدی در استخوان رادیوس ایجاد شد و سپس بر روی ناحیه میانی استخوان رادیوس قطعه‌ای از استخوان، به اندازه دو برابر عرض آن (تقریباً ۱۰ میلی‌متر) برداشته شد. بعد از آن، پوست به شکل تکی ساده و با نخ نایلون دو صفر بخیه شد (تصویر ۱).

سپس تا زمان بازگشت کامل خرگوش‌ها از بیهوشی صبر کرده و در قفس بدون تثبیت خارجی رها شدند. همچنین به منظور جلوگیری از عفونت بعد از عمل، به مدت ۳ روز، هر روز یک مرتبه به خرگوش‌ها داروی آنتی‌بیوتیک اینروفلوکساسین (ساخت شرکت رویان دارو، ویال ۵۰ میلی‌لیتر ۱۰ درصد) ۵٪ با دوز mg/kg ۵ به روش عضلانی تزریق شد.

ارزیابی:

برای اطلاع از وضعیت بالینی، خرگوش‌ها روزی دو مرتبه مورد معاینه قرار می‌گرفتند و موضع عمل به طور کامل و به صورت

جدول ۱- نتایج به دست آمده از ارزیابی رادیوگرافیکی (مجموع معیارهای ارزیابی) در هفته‌های مختلف

P ^a	ترانکرون میانۀ (حداقل - حداکثر)	کنترل نرمال سالیین میانۀ (حداقل - حداکثر)	اتوگرافت میانۀ (حداقل - حداکثر)	کنترل منفی میانۀ (حداقل - حداکثر)	گروه
					هفته
۰/۰۲	۱(۰-۲) ^c	۱(۰-۱)	۵(۱-۵) ^b	۰(۰-۱)	دوم
۰/۰۱	۵(۲-۹) ^e	۱(۰-۵)	۵(۵-۹) ^d	۱(۱-۶)	چهارم
۰/۰۰۴	۹(۸-۹) ^e	۱(۰-۵)	۵(۵-۱۰) ^f	۱(۱-۶)	ششم
۰/۰۰۵	۸(۱-۸)	۱(۰-۸)	۱۰(۹-۱۰) ^h	۴(۱-۹)	هشتم

(a) Kruskal- Wallis non parametric ANOVA

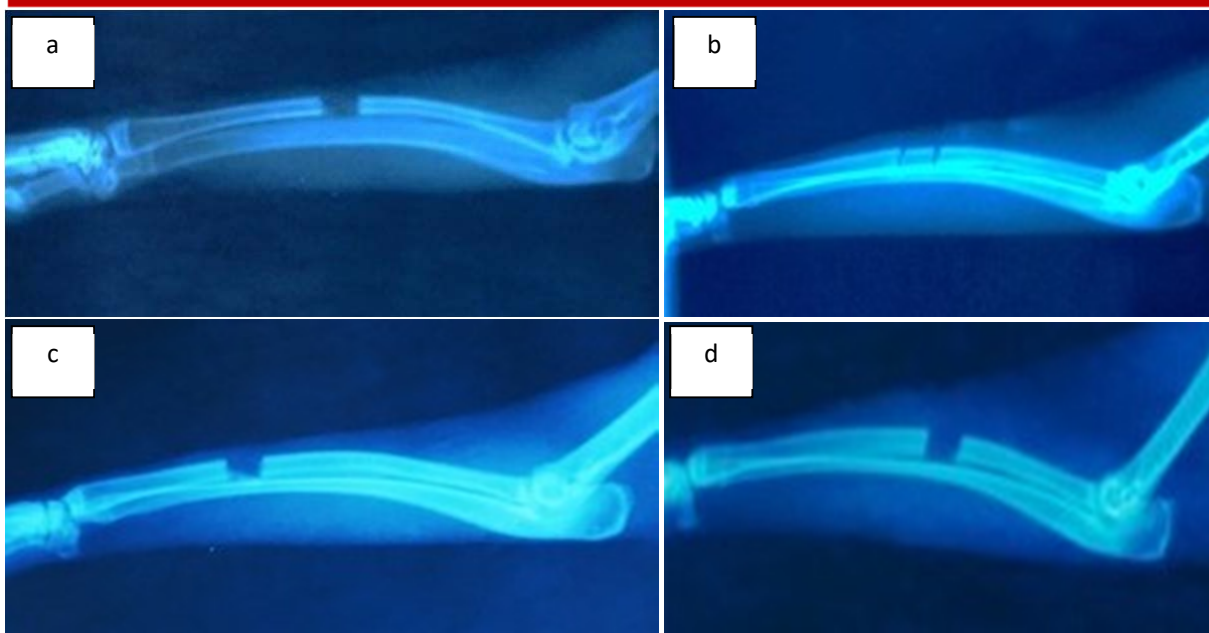
(b) گروه اتوگرافت اختلاف معناداری با گروه کنترل منفی $p=0/02$ و گروه کنترل نرمال سالیین $p=0/04$ داشته است(c) گروه ترانکرون اختلاف معناداری با گروه کنترل منفی $p=0/04$ داشته است.(d) گروه اتوگرافت اختلاف معناداری با گروه کنترل نرمال سالیین $p=0/01$ داشته است.(e) گروه ترانکرون به شکل معناداری با گروه کنترل منفی $p=0/03$ و گروه کنترل نرمال سالیین $p=0/02$ ارتباط داشته است.(f) گروه اتوگرافت به شکل معناداری با گروه کنترل نرمال سالیین $p=0/01$ ارتباط داشته است.(g) گروه ترانکرون به شکل معناداری با گروه کنترل منفی $p=0/06$ و گروه کنترل نرمال سالیین $p=0/08$ ارتباط داشته است.(h) گروه اتوگرافت به شکل معناداری نسبت به گروه کنترل منفی $p=0/09$ و گروه کنترل نرمال سالیین $p=0/06$ و گروه ترانکرون $p=0/06$ بهتر عمل کرده بود.نمره‌بندی التیام استخوان استفاده شد^(۱۶).

تجزیه و تحلیل آماری

برای انجام تست‌های آماری از نرم‌افزار SPSS (ویرایش ۱۹) استفاده شد. نتایج به دست آمده به وسیله آزمون آماری Kruskal-Wallis non-parametric ANOVA test مورد تجزیه و تحلیل آماری قرار گرفت و هنگامی که ارزش p کمتر از ۰/۰۵ می‌شد، مجدداً با آزمون آماری Mann-Whitney مورد

تثبیت، درون فرمالین قرار داده شدند. سپس، استخوان به منظور دمی‌ناله شدن، ۴ روز در اسید آلی ۱۰٪ (اسید نیتریک) قرار داده شد. بعد از آن، نمونه‌ها با آب شسته شدند و توسط دستگاه اتوتکنیکون عمل‌آوری شدند. در این مرحله، نمونه‌ها برای تهیه اسلایدهای میکروسکوپی به آزمایشگاه هیستوپاتولوژی ارسال شدند و توسط میکروسکوپ نوری مورد بررسی قرار گرفتند. در ارزیابی هیستوپاتولوژیکی، از روش

تصویر ۲- رادیوگراف‌های هفته دوم: (a) ترانکرون، (b) گروه اتوگرافت، (c) گروه کنترل نرمال سالیین، (d) گروه کنترل منفی





نشانه‌ای از التهاب و عفونت در هیچکدام از خرگوش‌ها مشاهده نشد. در ضمن، در گروه ترانکرون شکل‌گیری استخوان تراپکولار و شکل‌گیری مغز استخوان مشاهده شد. در گروه کنترل نرمال سالین و کنترل منفی قسمت اعظم نقیصه را بافت فیبروز پر کرده بود و در گروه اتوگرافت شکل‌گیری استخوان تراپکول ضخیم و شکل‌گیری مغز استخوان به خوبی مشهود بود. نتایج هیستوپاتولوژیک مانند نتایج رادیولوژیک با آزمون Kruskal-Wallis non-parametric ANOVA test و نتایج تکمیلی نیز با استفاده از آزمون آماری Mann-Whitney U test به دست آمد. طبق این آزمون تنها بین گروه کنترل منفی نسبت به گروه اتوگرافت و گروه ترانکرون اختلاف معنادار دیده شد. گروه کنترل منفی نسبت به گروه اتوگرافت بهتر عمل کرده بود ($p=0/04$)، و گروه کنترل منفی نسبت به گروه ترانکرون ضعیف‌تر عمل کرده بود (جدول ۲ و تصویرهای ۶ تا ۹).

تجزیه و تحلیل آماری قرار می‌گرفتند و مقادیر کمتر از ۵٪ ($p<0/05$) از نظر آماری معنی‌دار تلقی می‌شدند.

نتایج

در مطالعه انجام شده، هیچ‌گونه عفونتی در محل جراحی مشاهده نشد. ارزیابی رادیوگرافیکی روند التیام در خرگوش‌ها در چهار گروه اتوگرافت، ترانکرون، کنترل منفی و کنترل نرمال سالین؛ و در روزهای ۱۴، ۲۸، ۴۲ و ۵۶ بعد از عمل انجام شد. درجه‌بندی از نظر شکل‌گیری استخوان، میزان جوش خوردگی فوقانی و تحتانی و شکل‌پذیری دوباره استخوان (بازسازی) صورت گرفت (جدول ۱ و تصویرهای ۲ تا ۵).

۵۶ روز بعد از عمل، استخوان رادیوس خارج شد و نمونه‌های جدا شده، جهت ارزیابی هیستوپاتولوژی به آزمایشگاه ارجاع داده شدند و بر اساس سیستم درجه‌بندی التیام استخوان مورد ارزیابی قرار گرفتند^(۱۶). در ارزیابی هیستوپاتولوژی هیچ‌گونه

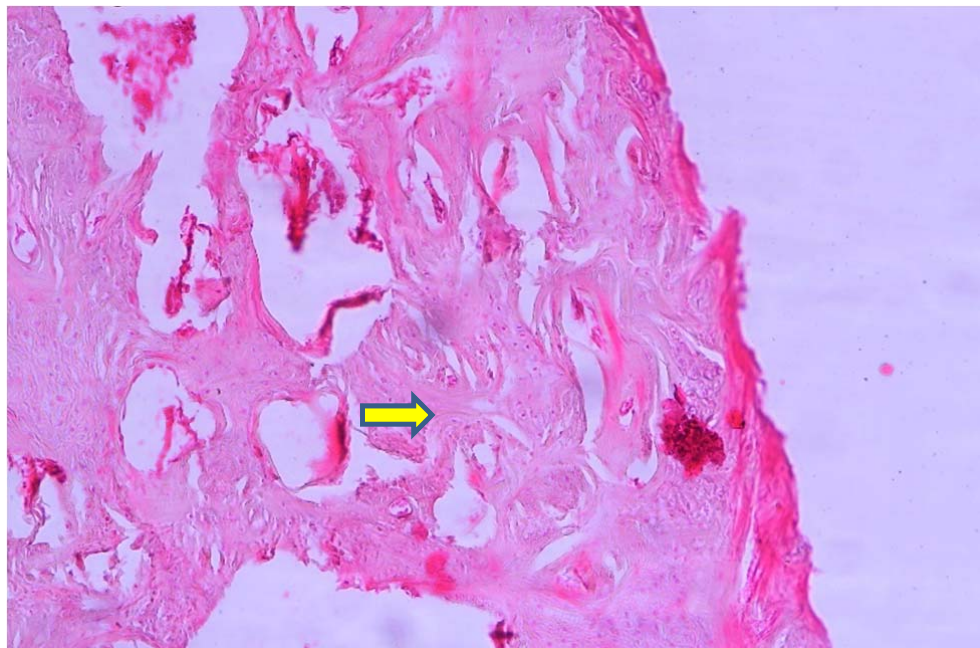
جدول ۲- نتایج به دست آمده از ارزیابی هیستوپاتولوژی

p^a	ترانکرون میانه (حداقل - حداکثر)	کنترل نرمال سالین میانه (حداقل - حداکثر)	اتوگرافت میانه (حداقل - حداکثر)	کنترل منفی میانه (حداقل - حداکثر)
۰/۰۵	۵(۲-۶)	۱(۱-۷)	۶(۲-۶)	۱(۰-۳) ^b

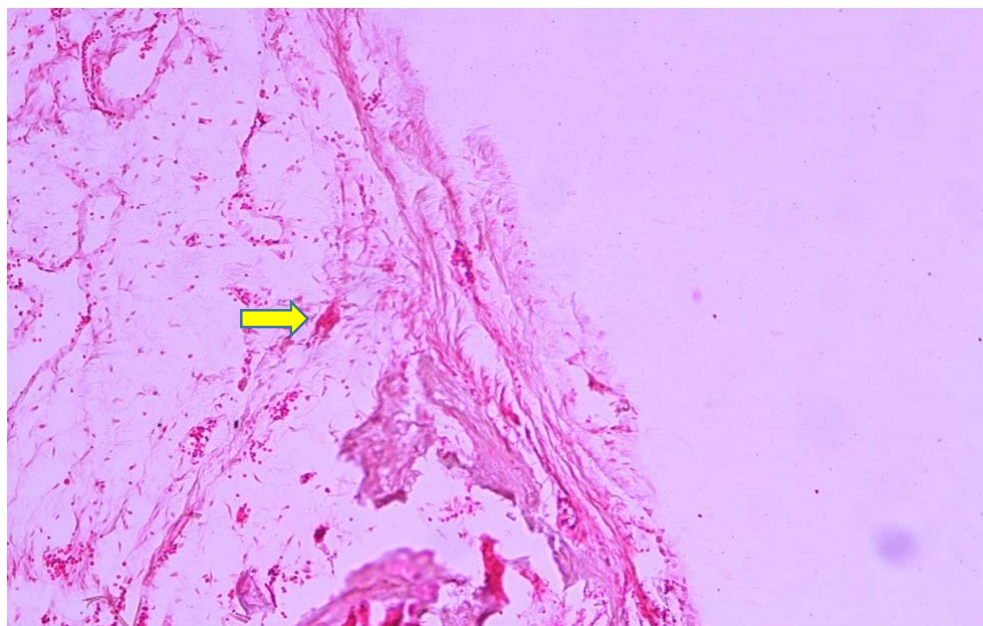
(a) Kruskal- Wallis non parametric ANOVA

گروه کنترل منفی نسبت به گروه اتوگرافت $p=0/04$ و گروه ترانکرون $p=0/04$ اختلاف معنادار دارد. (b)

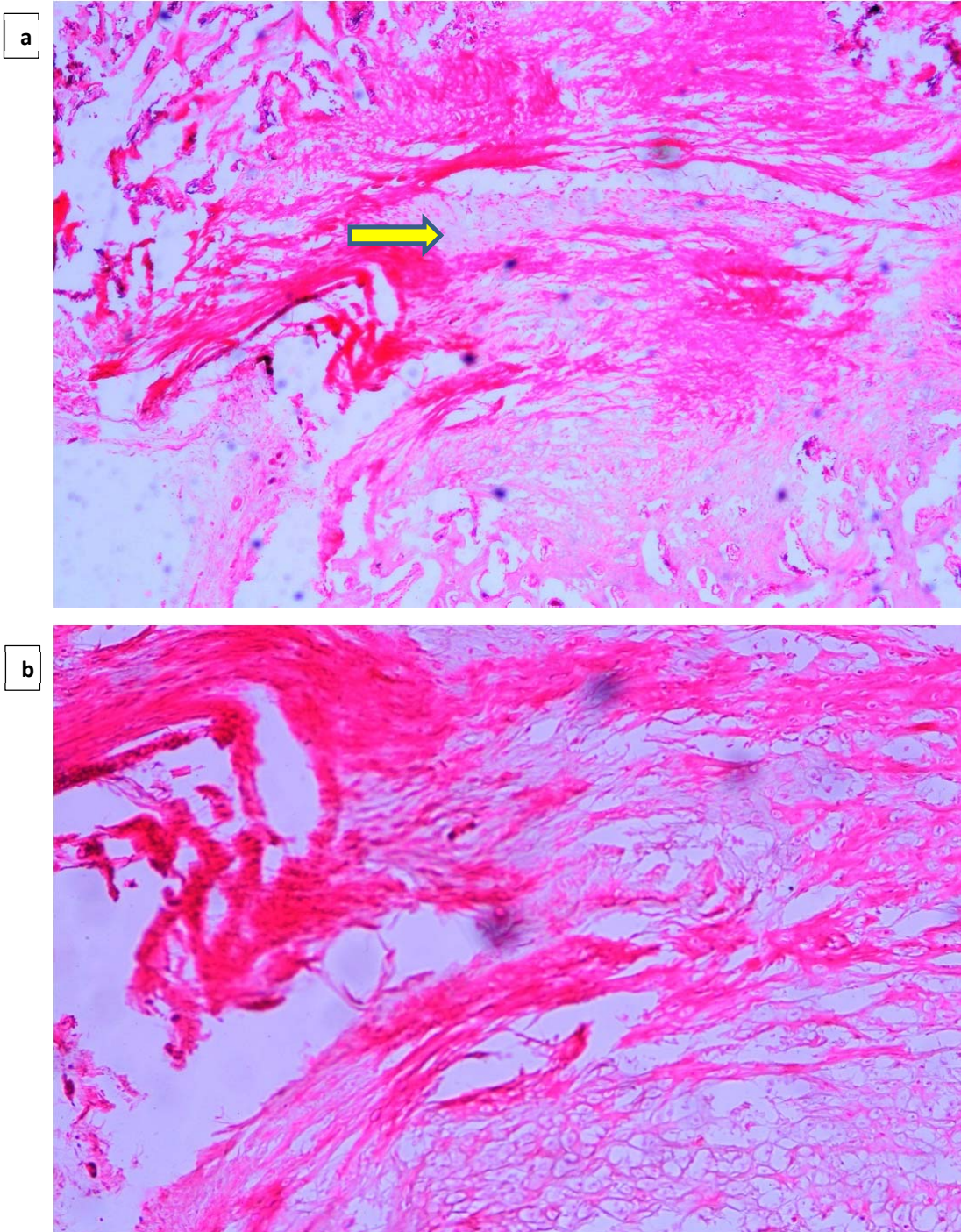
تصویر ۴- علائم هیستوپاتولوژی گروه ترانکرون، شکل گیری استخوان تراپکول (فلش زرد رنگ).
تصویر هیستولوژی H&E با بزرگنمایی ۱۰X



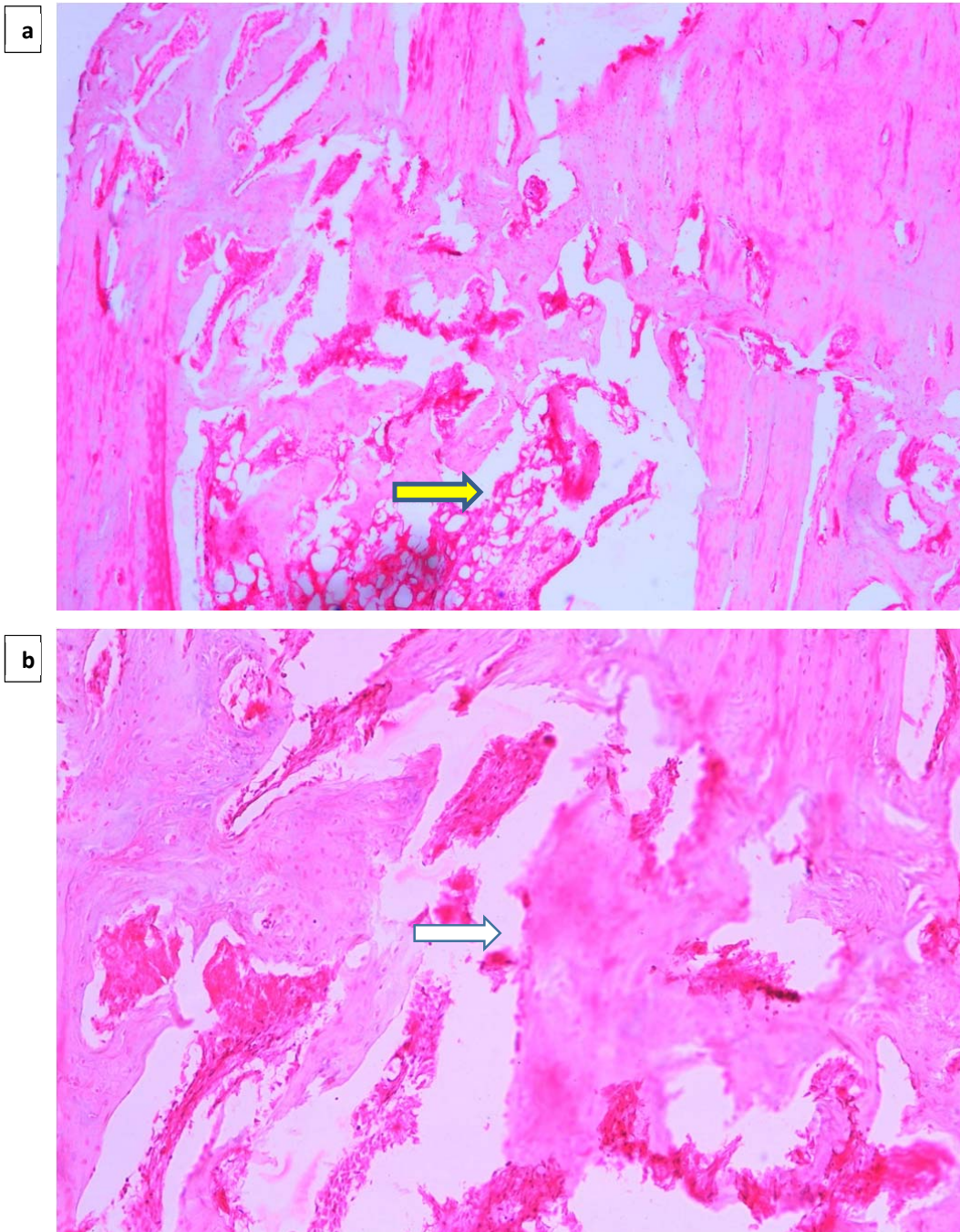
تصویر ۵- علائم هیستوپاتولوژی گروه کنترل نرمال سالین، شکل گیری بافت فیبروز (فلش زرد رنگ).
تصویر هیستولوژی H&E با بزرگنمایی ۱۰X



تصویر ۶- علائم هیستوپاتولوژی گروه کنترل منفی، شکل‌گیری بافت فیبروز (فلش زرد رنگ).
تصویر هیستولوژی H&E. (a): با بزرگنمایی ۴X و (b): با بزرگنمایی ۱۰X



تصویر ۷- علائم هیستوپاتولوژی گروه اتوگرافت، شکل گیری مغز استخوان (فلش زرد رنگ)، شکل گیری استخوان ترایکولار ضخیم (فلش سفید رنگ). تصویر هیستولوژی H&E. (a): با بزرگنمایی ۴X و (b): با بزرگنمایی ۱۰X



بحث و نتیجه‌گیری

در مطالعه روند التیام استخوان بهتر است به جای موش صحرایی از مدل خرگوش استفاده شود، زیرا سیستم هاورس^۱ استخوان‌های بلند خرگوش شبیه به انسان است به همین دلیل مدل خوبی برای انجام مطالعات جهت روند التیام شکستگی‌ها محسوب می‌شود^(۱۷). استخوان انتخاب شده جهت مقایسه پیوندها در خرگوش، استخوان ساعد است زیرا با برداشتن بخشی از این استخوان، به علت وجود اتصال بین زندزیرین یا ساعد و زندزیرین در خرگوش نیازی به تثبیت کننده نیست، در نتیجه می‌توان روند التیام استخوان را بدون تأثیر وجود تثبیت کننده بررسی و ارزیابی کرد^(۱۸). نقیصه ایجاد شده بر روی استخوان رادیوس درست در قسمت میانی استخوان بود و اندازه طول قطعه برداشته شده، دو برابر عرض دیافیز استخوان در آن محل بود تا یک مدل غیراتصال ایجاد شود^(۱۹).

گروه اتوگرافت در این مطالعه بهترین گروه بود و از نظر سرعت ترمیم نسبت به تمامی گروه‌ها بهترین عملکرد را داشت. از نظر عملکردی نیز گروه ترانکرون شبیه به گروه اتوگرافت بود.

پیوند استخوان خودی (اتوگرافت) در مقایسه با سایر عوامل تحریک کننده استخوان‌سازی به عنوان پیوند طلایی مطرح است. استخوان پیوندی خودی (اتوگرافت) علاوه بر مواد تحریک کننده التیام، حاوی سلول‌هایی است که واکنش‌های ایمنی را تحریک نمی‌کند و باعث انتقال بیماری‌های مسری نمی‌شود^(۱). در دام‌های کوچک برای جمع‌آوری استخوان خودی از ستیغ ایلئوم، سطح داخلی سمت بالای استخوان درشت نی و انتهای بالایی استخوان بازو و در انسان نیز از ستیغ ایلئوم استفاده می‌شود؛ ولی همین جمع‌آوری استخوان خودی عوارضی مثل درد، عفونت، شکستگی، از دست دادن خون و افزایش مراحل جراحی دارد. همچنین، مقدار استخوان برداشت شده محدود است^(۲).

گروه پیوند اتوگرافت در تحقیقات به عنوان گروه کنترل مثبت در نظر گرفته می‌شود و در مطالعه ما نیز به عنوان گروه کنترل مثبت عملکرد مطلوبی داشت. گروه ترانکرون تقریباً مانند گروه اتوگرافت عمل کرده بود و از گروه نرمال سالیین و کنترل منفی عملکرد بهتری داشت. اثر سودمند ترانکرون را در ترمیم استخوان ممکن است بتوان ناشی از اثرات تنظیم کننده ترانکرون در اثرات التهابی و نکروزهای بعد از جراحی و همچنین تنظیم مرحله فیبروپلازی التیام دانست^(۲۰). در مطالعه بیغم صادق و

همکاران تأثیر ترانکرون به همراه هیدروکسی آپاتیت بر ترمیم نقیصه استخوان خرگوش استفاده شده است که اثرات مثبت استفاده توأم نتیجه مطلوبی داشته است^(۲۱). در مطالعه غریبان و همکاران درباره تأثیر ترانکرون بر ترمیم تاندون در مقایسه با گروه کنترل، از نظر درمانی به اثرات مفید وزن‌گیری و توانایی حرکتی و کاهش التهاب بافتی در طول درمان اشاره شده است که در پژوهش مذکور ناشی از کاهش چسبندگی، ادم، نکروز و همچنین امکان اثرات کاهش درد در ترانکرون دانسته شده است^(۱۴).

مطالعه ادیب هاشمی و همکاران بیانگر این است که سلول‌های التهابی گروه درمان با ترانکرون، به طور معناداری نسبت به گروه کنترل کمتر و سطح کلاژن به طور معناداری بیشتر است. همچنین مشاهدات هیستوپاتولوژی به افزایش آنژیوژنز گرانولوما اشاره کرده است^(۲۲). اثرات ضدالتهابی یکی از بارزترین ویژگی‌های بیان شده برای ترانکرون است. در پروسه التیام، التهاب یک امر ضروری برای ساخت میانجی‌هایی است که باعث آغاز روند بازسازی می‌شوند. زمانی که ترانکرون در دوره التهابی التیام استفاده شود کنترل این اثر ممکن است مفید باشد^(۲۳).

بعضی خواص ضدالتهابی در ترانکرون را می‌توان ناشی از توانایی آن در جلوگیری از التهاب اضافی و در نتیجه تأثیر بر ترمیم بافت دانست^(۱۴). التهاب مزمن با پایدار کردن درگیری در پلی‌مرفونوکلیتار لوکوسیت‌ها (PMNs Leukocytes) ممکن است باعث هدایت تخریب سلولی شود. نقش اولیه PMNs حمایت در مقابل میکروارگانیسم‌ها می‌باشد و از دیگر نقش‌های آن جذب سلول‌های مونونوکلیتار و ایجاد فاگوسیتوز فیبرین‌ها و دبریدها است. لازم به ذکر است که آنزیم‌های لیزوزومی که توسط PMNs آزاد می‌شوند در نابودی دبریدها نقش دارند^(۲۴).

یکی از محدودیت‌های مطالعه عبارت بود از عدم انجام تست بیومکانیک در نمونه‌ها که در آن صورت ضروری بود تعداد حیوانات مورد آزمایش زیاد باشد و این امکان پذیر نبود. همچنین، بهتر بود از محل ترمیم سی‌تی‌اسکن تهیه شود و حجم استخوان‌سازی به صورت کمی بین گروه‌ها مقایسه شود که در این مورد هم دسترسی به ابزار تهیه سی‌تی‌اسکن در حیوانات را نداشتیم.

تصور می‌شود ترانکرون باعث آزاد شدن پپتیدهای هضم کننده‌ای می‌شود که بافت نکروز کننده را مشخص می‌کنند^(۲۵). اثرات نکروزکنندگی و مشخص کننده بافت نکروزه در ترانکرون

دیگر اجازه شکل‌گیری استخوان داده نمی‌شود^(۲۵)، به همین دلیل در گروه ترانکرون، سرعت شکل‌گیری استخوان بیشتر شده بود. به طور کلی، ترانکرون در مطالعه حاضر اثر ترمیم‌کنندگی شکستگی استخوان در خرگوش را داشته است.

می‌تواند باعث جداسازی بافت مرده از زنده شود و در سطح سلولی تمایز را تشدید کند^(۱۴).

در گروه نرمال سالین و گروه کنترل منفی چنان‌که در رادیوگرافها و نتایج هیستوپاتولوژی مشخص شد نقیصه با بافت فیبروزه پر شده بود. زمانی که نقیصه با بافت فیبروزه پر شود

منابع

1. Fitch R et al. Bone autografts and allografts in dogs. *Compend Contin Educ Vet.* 1997; 19(5): p. 558-578.
2. Ferguson J F. Fracture of the humerus after cancellous hone graft harvesting in a dog. *J Small Anim Pract.* 1996; 37(5): p. 232-234.
3. Dorea H C et al. Evaluation of healing in feline femoral defects filled with cancellous autograft, cancellous allograft or Bioglass. *Vet Comp Orthop Traumatol.* 2005; 18(3): p. 157-168.
4. Stampa S. A field trial comparing the efficacy of sulphamonomethoxine, penicillin, and tarantula poison in the treatment of pododermatitis circumspecta of cattle. *J S AFR VET ASSOC.* 1986; 57(2): p. 91-93.
5. Gultiken N. and Vural M R. The effect of *Tarantula cubensis* extract applied in pre and postoperative period of canine mammary tumours. *J Istanbul Vet Science.* 2007; 2: p. 13-23.
6. Muste A et al. Morphoclinical aspects in tarsal bursitis in cattles; surgical and medicamentous treatment. *Bulletin UASVM Horticulture.* 2008; 65(2).
7. Sardari K, Kakhki E G and Mohri M. Evaluation of wound contraction and epithelialization after subcutaneous administration of *Theranekron*[®] in cows. *Comp Clin Path.* 2007; 16(3): p. 197-200.
8. Albay M K et al. Influence of *Tarantula cubensis* extract on the treatment of the oral lesions in cattle with bluetongue disease. *Kafkas Univ Vet Fak Derg.* 2010; 16: p. 593-596.
9. Kacar C et al. The effects of *Theranekron* (R) application on uterus involution and vaginal effluence in cows early puerperal period. *Kafkas Univ Vet Fak Derg.* 2007; 13(1): p. 11-15.
10. Cam, Y et al. Efficacy of levamisole and *Tarantula cubensis* venom for the treatment of bovine cutaneous papillomatosis. *Vet Rec.* 2007; 160(14): p. 486-488.
11. Richardson-Boedler C. The brown spider *Loxosceles laeta*: source of the remedy *Tarentula cubensis*? *Homeopathy.* 2002; 91(3): p. 166-170.
12. Oryan A, Moshiri A and Raayat A R. Novel application of *Theranekron*[®] enhanced the structural and functional performance of the tenotomized tendon in rabbits. *Cells Tissues Organs.* 2012; 196(5): p. 442-455.
13. Adib-Hashemi F et al. 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. *Diagn Pathol.* 2015; 10(1): p. 19.
14. Bigham-Sadegh A et al. Effects of adipose tissue stem cell concurrent with greater omentum on experimental long-bone healing in dog. *Connective tissue research.* 2012; 53(4): p. 334-342.
15. Lane J M and Sandhu H. Current approaches to experimental bone grafting. *The Orthopedic clinics of North America.* 1987; 18(2): p. 213-225.
16. 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. *Connective tissue research.* 2015; 56(3): p. 175-194.
17. Matos M A, Araújo F P and Paixão F B. Histomorphometric evaluation of bone healing in rabbit fibular osteotomy model without fixation. *Journal of orthopaedic surgery and research.* 2008; 3(1): p. 1.
18. An Y H and Friedman R J. *Animal models in orthopedic Research* 1ed. 1999; CRC Press.
19. Bolander M E and Galian G. The use of demineralize bone matrix in the repair of segmental defect. *Journal of Bone and Joint Surgery.* 1986; 68A: p. 1264-1274.

20. Enbergs H and Sensen B. Effectiveness of a homeopathic treatment of chronic endometritis in dairy cows. *Praktische Tierarzt*. 2007; 88(7): p. 534-+.
21. BighamSadegh A et al. Concurrent Use of Theranekron with Hydroxyapatite on Bone Healing in Rabbit Model: Radiographic and Histologic Evaluation. *Iranian Journal of Orthopaedic Surgery*, 2017; 15(2): p. 56-64.
22. Adib-Hashemi F et al. 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(1): p. 1.
23. Lozier S and Harari J. Surgical complications and wound healing in the small animal practice. *Surgical complications and wound healing in the small animal practice*. 1993.
24. Sardari K, Kakhki E G and Mohri M. Evaluation of wound contraction and epithelialization after subcutaneous administration of Theranekron® in cows. *Comparative Clinical Pathology*. 2007; 16(3): p. 197-200.
25. Oryan A, Bigham-Sadegh A and Abbasi-Teshnizi F. Effects of osteogenic medium on healing of the experimental critical bone defect in a rabbit model. *Bone*. 2014; 63: p. 53-60.