

آثار کاربرد هم‌زمان از پلاکت لیوفیلیزه شده انسانی و امنتوم اتوگرافت در ترمیم استخوان در مدل خرگوش

چکیده:

مقدمه: این مطالعه به منظور بررسی تأثیر پودر پلاسما غنی از پلاکت انسانی لیوفیلیزه (LhPRP) و اتوگرافت امنتوم بر خواص ترمیم استخوان در مدل حیوانی خرگوش انجام شد که می‌توان از آن برای جراحی‌های مختلف ارتوپدی یا ترمیمی فک و صورت استفاده کرد.

مواد و روش‌ها: نقایص استخوانی به طول ۱۰ میلی‌متر در دیافیز استخوان رادیوس ۲۰ خرگوش ایجاد شد و سپس بدون مداخله در نقیصه (گروه شاهد) یا با یکی از مواد زیر پر شد: یک قطعه امنتوم خودی، LhPRP یا استفاده هم‌زمان از LhPRP و امنتوم. تشکیل، پیوند و بازسازی استخوان در هفته‌های ۲، ۴، ۶ و ۸ بعد از عمل توسط رادیوگرافی با معیارهای ترمیم استخوان مورد بررسی قرار گرفت.

نتایج و بحث: نتایج نشان داد که LhPRP با یا بدون امنتوم در بازسازی استخوان در نقیصه‌های ۱۰ میلی‌متری نسبت به گروه شاهد برتری معنی‌داری داشت ($p < 0.05$).

نتیجه‌گیری: پودر LhPRP به تنهایی یا همراه با امنتوم اتوژنیک پس از ۵۶ روز افزایش خاصیت بازسازی استخوان را در نقیصه‌های استخوانی تجربی در مدل حیوانی ارائه می‌کند.

واژگان کلیدی: امنتوم، خشک‌کردن انجمادی، پلاکت‌ها، بازسازی استخوان، خرگوش‌ها

پذیرش مقاله: ۴۱ روز قبل از چاپ

دکتر امین بیغم صادق^۱، دکتر اسما عمادی^۲، دکتر احمد عریان^۳، دکتر امیرمحمد جان‌نثار

مقدمه

پژوهش برای یافتن جایگزین‌هایی برای گرافت‌های استخوان اتولوگ، در حالی که ویژگی‌های ترمیم استخوان را نیز تقویت کند، همچنان ادامه دارد. گرافت‌های استخوان کاربرد گسترده‌ای در درمان جوش‌نخورگی استخوان (nonunion) دارند. توانایی این گرافت‌ها به عنوان داربست‌هایی که استحکام بیومکانیکی کافی برای تحمل نیروهای فشاری وارده بر استخوان‌ها در هنگام راه رفتن فراهم می‌کنند بسیار حائز اهمیت است. گرافت‌های استخوان اثر چشمگیری در ارتقای استئوژنز دارد که در نهایت به افزایش تشکیل استخوان منجر می‌شود^(۱). محدودیت در دسترسی به میزان گرافت و تأثیر بر محل اهداکننده در گرافت‌های اتولوگ و انتقال بیماری در آلوگرافت‌ها از رایج‌ترین معایب کاربرد این نوع گرافت‌ها هستند. به‌طور کلی، دو گروه عمده برای گرافت‌های استخوان وجود دارد: مواد زیستی مبنا مانند هیدروکسی‌آپاتیت، یا مواد سنتتیک مبنا مانند کربنات کلسیم، که هر دو مزایا و معایب خاص خود را دارند. روش‌های کاربرد مواد زیستی، سلول‌درمانی و القای مکانیکی، که حاوی محرک‌های استئوژنیک هستند، همچنان نوین و پرهزینه به شمار می‌روند، به جز یک محصول PRP (پلاسما غنی از پلاکت)^(۱): LhPRP ایمن و همچنین به راحتی قابل تولید است^(۲،۳). پیش‌تر، LhPRP برای اهداف ترمیم استخوان در ارتوپدی و همچنین در جراحی‌های فک و صورت استفاده شده است؛ باین‌حال، نتایج متناقضی در خصوص فواید این ماده گزارش شده است، به طوری که هم نتایج مثبت و هم منفی بوده‌اند^(۴). عوامل متغیری می‌توانند در داده‌های مطالعات بالینی تأثیر بگذارند: اندازه و محل نقص استخوان و عوامل مرتبط با بیمار، در حالی که مطالعات تجربی انجام شده در این زمینه مشخص نکرده‌اند که آیا غلظت‌های استفاده شده از LhPRP با یکدیگر قابل مقایسه بوده‌اند یا خیر. از این رو، لازم است اثربخشی واقعی LhPRP در درمان جوش‌نخورگی جوش‌خورگی تأخیری استخوان‌ها بررسی و مشخص شود، تا بتوان استفاده از آن را در کاربردهای بالینی توجیه کرد.

۱. بخش جراحی و رادیولوژی دام‌پزشکی، دانشکده دام‌پزشکی، دانشگاه شیراز، شیراز، ایران
 ۲. گروه علوم بالینی، دانشکده دام‌پزشکی، دانشگاه شهرکرد، شهرکرد، ایران
 ۳. گروه پاتولوژی، دانشکده دام‌پزشکی، دانشگاه شیراز، شیراز، ایران

نویسنده مسئول:

دکتر امین بیغم صادق

Email address:
 dr.bigham@gmail.com

مواد و روش‌ها

حیوانات

در این مطالعه، ۲۰ خرگوش نر بالغ نژاد نیوزیلندی سفید به وزن $2/0 \pm 0/5$ کیلوگرم در قفس‌های جداگانه نگهداری شدند. این خرگوش‌ها تحت رژیم غذایی استاندارد قرار گرفتند و در طول مطالعه اجازه‌ی حرکت آزادانه داشتند. حیوانات به صورت تصادفی به چهار گروه ($n = 5$) تقسیم شدند: گروه کنترل، گروه امتوم، گروه LhPRP (پلاکت انسانی تهیه‌شده از سازمان انتقال خون) و گروه ترکیب‌شده از امتوم و LhPRP. همه‌ی حیوانات تحت تزریق زیرجلدی داروهای ضدانگل قرار گرفتند، با رژیم غذایی معمول تغذیه شدند و از ۱۵ روز پیش از عمل جراحی بستری شدند و اجازه حرکت آزادانه داشتند. کمیته‌ی اخلاق دانشگاه تأیید کرد که این مطالعه مطابق با پروتکل‌های حقوق حیوانات مطابقت داشته است.

تهیه پلاکت لیوفیلیزه‌شده

پلاسمای غنی از پلاکت انسانی (PRP) توسط مرکز انتقال خون شهرکرد تهیه و تأمین شد. حدود ۵۰۰ میلی‌لیتر خون از یک اهداکننده سالم جمع‌آوری شد و در ۷۰ میلی‌لیتر ماده ضدانعقاد (سیترات-فسفات-دکستروز [CPD]) ریخته شد و تا دمای حدود ۲۲ درجه سلسیوس سرد شد. در طی ۲۴ ساعت پس از جمع‌آوری، خون از طریق سانتریفیوژ به سه بخش گلبول‌های قرمز، لایه بافی‌کوت (لکوسیت‌ها و ترومبوسیت‌ها) و پلازما تفکیک شد. از لایه بافی‌کوت، لکوسیت‌ها از طریق فیلتراسیون حذف شدند و بخش جداشده حاوی پلاکت‌ها به‌عنوان PRP انسانی شناخته شد. برای به دست آوردن اطلاعات درباره افزایش غلظت پلاکت‌ها و نیز غلظت نهایی پلاکت‌ها در PRP خون، شمارش پلاکت در نمونه‌های خون کامل و PRP انجام شد. شمارش پلاکت با استفاده از دستگاه آنالایزر هماتولوژی (Advia 120، شرکت Bayer B.V، میدرخت، هلند) انجام شد. تعداد پلاکت‌ها در خون کامل و در PRP به ترتیب $10^9 \times 239$ و $10^9 \times 2422$ در لیتر بود. کیسه‌ی تازه پلاکت‌ها به آزمایشگاه منتقل و طبق مطالعه‌ی پیشین^(۱) در دمای ۲۲ درجه سلسیوس لیوفیلیزه شد. در نهایت، پلاکت‌های لیوفیلیزه‌شده تا زمان جراحی در حالت انجماد نگهداری شدند.

روش جراحی

اندام جلویی راست حیوانات تراشیده شدند و برای جراحی آماده‌سازی شدند. تمام حیوانات با تزریق کتامین (۳۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم) و اسپرومازین (۰/۲ میلی‌گرم بر کیلوگرم) بیهوش شدند و بیهوشی با استفاده از دستگاه بیهوشی و ایزوفلوران حفظ شد. از طریق رویکرد کرانیومدیال، نقص‌های استخوانی به اندازه بحرانی (۱۰ میلی‌متر) در ناحیه دیافیز استخوان رادیوس در همه خرگوش‌ها ایجاد شدند و سپس این نقص‌ها با یکی از موارد زیر پر شدند: یک قطعه امتوم اتولوگ از شکم همان حیوان برداشت شده (گروه درمان)، LhPRP (مقدار ۰/۵ میلی‌لیتر از PRP لیوفیلیزه‌شده تهیه‌شده در گروه درمان)، کاربرد هم‌زمان از

LhPRP (۰/۵ میلی‌لیتر) و امتوم اتولوگ (گروه درمان) یا نقص بدون هیچ‌گونه پرکننده‌ای رها شده‌به‌عنوان گروه کنترل. محل جراحی با نخ جذبی ۲-۰ (پلی‌گلاکتین ۹۱۰) در دو لایه بسته شد. برای برداشت امتوم اتولوگ، از رویکرد خط میانی شکمی (ventral midline) استفاده شد، امتوم به‌صورت آسپتیک برداشت شد و خط آلبا طبق روال بسته شد. حیوانات پس از جراحی بدون هیچ‌گونه فیکساتور خارجی بستری شدند. درمان آنتی‌بیوتیکی پس از جراحی با پنی‌سیلین (۴۰۰۰۰ واحد بین‌المللی بر کیلوگرم، عضلانی) و استرپتومایسین (۱۲ میلی‌گرم بر کیلوگرم، عضلانی) به مدت ۲ روز انجام شد. حیوانات به‌صورت روزانه برای به دست آوردن اطلاعات درباره توانایی تحمل وزن روی اندام و وضعیت زخم تحت پایش قرار گرفتند.

ارزیابی رادیوگرافی

رادیوگراف‌های جانبی (با تنظیمات ۴۵ کیلوولت بر ۲۰ میلی‌آمپر ثانیه) در هفته‌های دوم، چهارم، ششم و هشتم پس از عمل جراحی گرفته شدند و تشکیل استخوان، جوش خوردگی و بازسازی نقص استخوانی با استفاده از سیستم نمره‌دهی اصلاح‌شده Sandhu & Lane (جدول ۱) ارزیابی شد.^(۲) معیارهای رادیولوژیک شامل تشکیل استخوان، جوش خوردگی سمت پروگزیمال، جوش خوردگی سمت دیستال و بازسازی استخوان در هر مرحله ذکر شده بین گروه‌ها به‌صورت کور توسط دو رادیولوژیست محاسبه و مقایسه شدند.

ارزیابی آسیب‌شناسی بافتی

همه حیوانات پس از جراحی با تزریق عضلانی زایلازین (۵ میلی‌گرم بر کیلوگرم) و کتامین هیدروکلراید (۴۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم) آرام‌سازی شدند و سپس با تزریق مستقیم محلول سولفات منیزیم ($MgSO_4$) به درون قلب در روز ۵۶ اتانازی شدند.^(۳) همه استخوان‌های جراحی‌شده خارج شدند، آماده‌سازی و با رنگ‌آمیزی هماتوکسیلین-انوزین (H&E) رنگ‌آمیزی شدند و سپس این نمونه‌ها به‌صورت کورتوسط یک آسیب‌شناس با استفاده از سیستم نمره‌دهی Emery امتیازدهی شدند: شکاف به‌صورت خالی باقی مانده است (نمره = ۰)، شکاف فقط با بافت همبند پر شده است (نمره = ۱)، شکاف بیشتر با بافت فیبری‌تر از غضروف پر شده است (نمره = ۲)، غضروف بیشتر از بافت فیبری وجود دارد (نمره = ۳)، فقط غضروف وجود دارد (نمره = ۴)، غضروف بیشتر از استخوان است (نمره = ۵)، استخوان بیشتر از غضروف است (نمره = ۶)، و کاملاً با استخوان پر شده است (نمره = ۷).^(۴)

تحلیل‌های آماری

در وهله اول، داده‌ها با استفاده از آزمون کروسکال-والیس (Kruskal-Wallis)، که نوعی آزمون ناپارامتریک ANOVA است، با هم مقایسه شدند. زمانی که مقدار p کمتر از ۰/۰۵ بود، مقایسه‌های دوبه‌دو بین گروه‌ها با استفاده از آزمون Mann-Whitney U انجام شد (نرم‌افزار مورد استفاده برای تحلیل‌ها SPSS نسخه ۲۶ برای ویندوز، SPSS Inc، شیکاگو، آمریکا بود).

نتایج

در هفته هشتم، تفاوت معناداری بین گروه امنتوم و گروه LhPRP نیز مشاهده شد ($p < 0.02$) که گروه LhPRP نتایج بهتری را نشان داد (جدول ۲، شکل ۱-۴).

یافته‌های آسیب‌شناسی بافتی

از نظر آسیب‌شناسی بافتی، هیچ نشانه‌ای از التهاب یا عفونت پس از ۵۶ روز مشاهده نشد. در خصوص تشکیل استخوان، جوش خوردگی و بازسازی، تفاوت آماری معناداری بین گروه کنترل و گروه امنتوم ($p < 0.02$)، گروه LhPRP ($p < 0.05$) و همچنین گروه ترکیبی امنتوم-LhPRP ($p < 0.02$) وجود داشت؛ به طوری که فرایند بهبود در گروه کنترل به طور چشمگیری کندتر از سه گروه دیگر بود (جدول ۳، شکل ۵-۸).

در طول مطالعه، همه حیوانات زنده ماندند و هیچ‌گونه عارضه یا مشکل خاصی مشاهده نشد.

یافته‌های رادیوگرافی

تفاوت معناداری در معیارهای تشکیل استخوان، جوش خوردگی و بازسازی بین گروه کنترل و گروه LhPRP در هفته ششم مشاهده شد ($p < 0.05$) و در هفته هشتم نیز ادامه داشت ($p < 0.02$) به گونه‌ای که گروه LhPRP در مقایسه با گروه کنترل عملکرد بهتری داشت.

جدول ۱: سیستم امتیازدهی Lane & Sandhu

امتیاز	تشریح
۰	تشکیل استخوان بدون تشکیل استخوان
۱	تشکیل استخوان تا ۲۵ درصد از شکاف
۲	تشکیل استخوان تا ۵۰ درصد از شکاف
۳	تشکیل استخوان تا ۷۵ درصد از شکاف
۴	تشکیل استخوان تا ۱۰۰ درصد از شکاف
امتیاز	جوش خوردگی استخوان (جوش خوردگی پروگزیمال و دیستال به صورت جداگانه)
۰	بدون جوش خوردگی
۱	جوش خوردگی احتمالی
۲	جوش خوردگی کامل
امتیاز	بازآرایی
۰	بازآرایی مشاهده نشد
۱	بازآرایی کانال مغز استخوان
۲	بازآرایی کامل قشر استخوان
امتیاز	بیشترین امتیاز احتمالی در هر بخش
۴	تشکیل استخوان
۲	جوش خوردگی پروگزیمال
۲	جوش خوردگی دیستال
۲	بازآرایی مجدد
۱۰	بیشترین امتیاز

جدول ۲: یافته‌های رادیولوژیک مربوط به بهبود نقص استخوانی (مجموع امتیازات) در فواصل مختلف پس از عمل

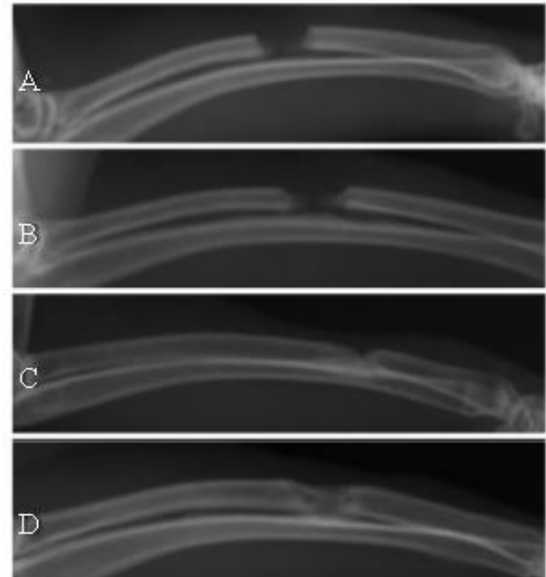
مقدار P	میانگین (کمترین-بیشترین)			کنترل	هفته‌های پس از عمل
	امنتوم اتولوگ	LhPRP	امنتوم LhPRP-		
۰/۲	۳(۲-۸)	۴(۱-۴)	۳(۱-۵)	۳(۳-۶)	دوم
۰/۸	۴(۴-۹)	۶(۶-۹)	۵(۵-۹)	۳(۳-۹)	چهارم
۰/۲	۶(۶-۱۰)	۹(۸-۱۰)	۶(۶-۹)	۳(۳-۹) ^b	ششم
۰/۰۵	۷(۷-۱۰) ^d	۱۰(۱۰-۱۰)	۱۰(۸-۱۰)	۴(۴-۱۰) ^c	هشتم

^aآزمون کروسکال-والیس انجام شده است. مقادیر P کمتر از ۰/۰۵ معنادار تلقی شده‌اند. در صورت وجود معناداری، آزمون Mann-Whitney U نیز انجام شده است.

^bتفاوت آماری معناداری بین گروه کنترل و گروه LhPRP در هفته ششم ($p < 0.05$) مشاهده شده است. گروه LhPRP نتایج بهتری داشت.

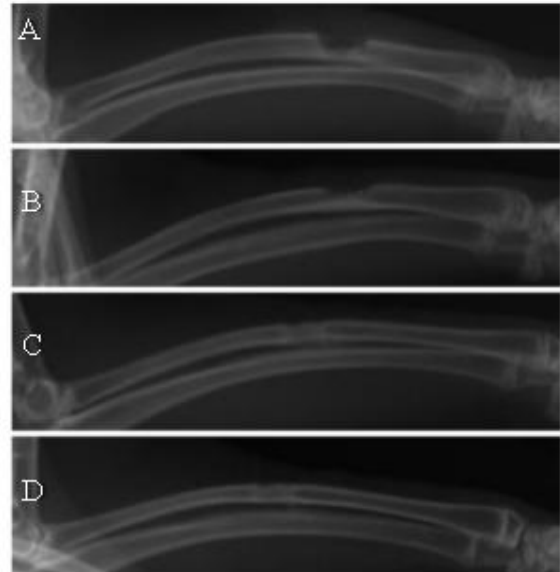
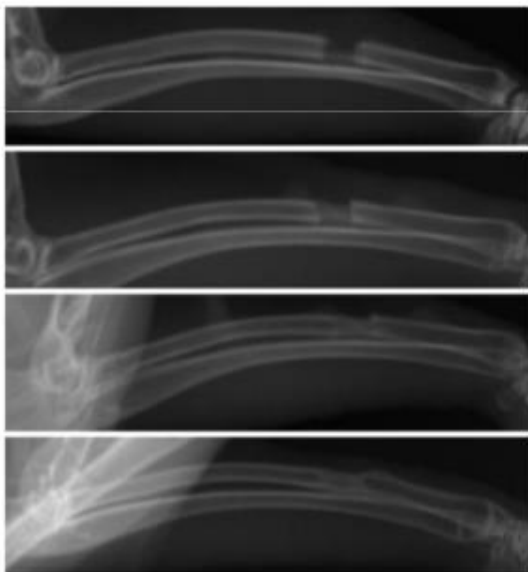
^cتفاوت آماری معناداری بین گروه کنترل و گروه LhPRP در هفته هشتم ($p < 0.02$) مشاهده شده است.

^dتفاوت آماری معنادار بین گروه امنتوم و گروه LhPRP در هفته هشتم ($p < 0.02$) مشاهده شده است.



شکل ۲: A: رادیوگراف گروه امنتوم، هفته دوم، B: رادیوگراف گروه امنتوم، هفته چهارم، C: رادیوگراف گروه امنتوم، هفته ششم، D: رادیوگراف گروه امنتوم، هفته هشتم

شکل ۱: A: رادیوگراف گروه کنترل، هفته دوم، B: رادیوگراف گروه کنترل، هفته چهارم، C: رادیوگراف گروه کنترل، هفته ششم، D: رادیوگراف گروه کنترل، هفته هشتم



شکل ۴: A: رادیوگراف گروه امنتوم-LhPRP، هفته دوم، B: رادیوگراف گروه امنتوم-LhPRP، هفته چهارم، C: رادیوگراف گروه امنتوم-LhPRP، هفته ششم، D: رادیوگراف گروه امنتوم-LhPRP، هفته هشتم

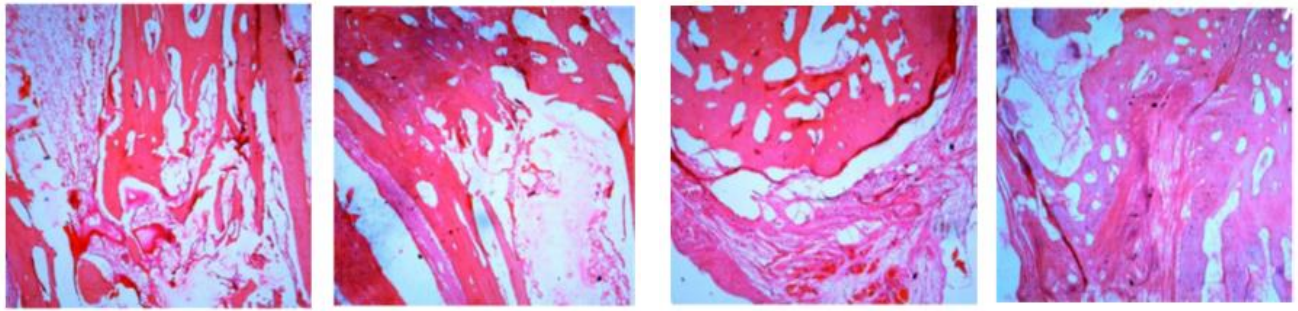
شکل ۳: A: رادیوگراف گروه LhPRP، هفته دوم، B: رادیوگراف گروه LhPRP، هفته چهارم، C: رادیوگراف گروه LhPRP، هفته ششم، D: رادیوگراف گروه LhPRP، هفته هشتم

جدول ۳: ارزیابی آسیب‌شناسی بافتی بهبود نقص استخوانی

مقدار P ^a	امنتوم-LhPRP	LhPRP	امنتوم	کنترل
۰/۰۲	۳(۳-۶) ^b	۷(۷-۷)	۶(۵-۷)	۷(۶-۷)

^aآزمون کروسکال-والیس انجام شده است. مقدار P کمتر از ۰/۰۵ معنادار تلقی شده است.

^bتفاوت آماری معناداری بین گروه کنترل و گروه‌های امنتوم ($p < 0.02$) و امنتوم-LhPRP ($p < 0.02$) مشاهده شد؛ بهبود در گروه کنترل به‌طور چشمگیری کندتر بوده است.

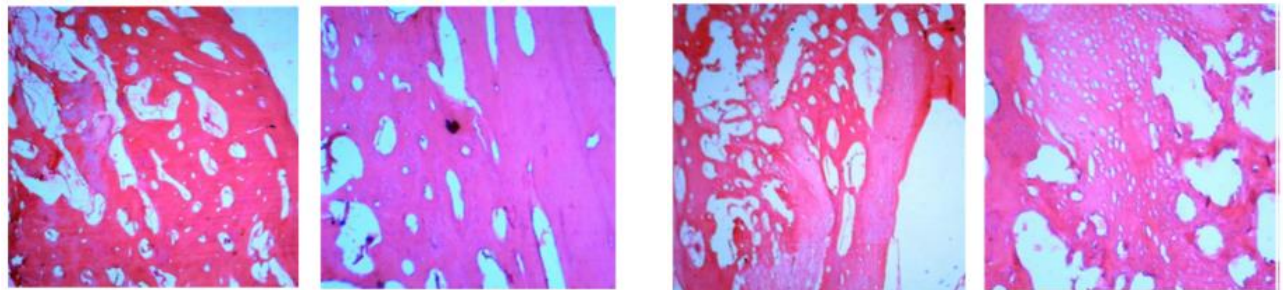


شکل ۵: بخش رنگ آمیزی شده گروه کنترل، هفته

هشتمپساز جراحی، A: درپوش فیبروزی که استخوان سازی را مسدود کرده است. B: اطراف درپوش فیبروزی با استخوان اسفنجی احاطه شده است. 10X (H&E)

شکل ۶: بخش رنگ آمیزی شده گروه امتنوم، هفته

هشتمپساز جراحی، A: استخوان سازی به خوبی مشخص است. B: بخش نقص دار با استخوان اسفنجی پر شده است. 10X (H&E)



شکل ۷: بخش رنگ آمیزی شده گروه LhPRP، هفته

هشتمپساز جراحی، A: استخوان سازی اسفنجی با مغز استخوان، B: هایپرتروفی غضروف و کندروسیت‌ها. 10X (H&E)

شکل ۸: بخش رنگ آمیزی شده گروه امتنوم-LhPRP، هفته

هشتمپساز جراحی، A: باز آرای مغز استخوان، B: تشکیل استخوان و غضروف. 10X (H&E)

بحث

چه همراه با استخوان اتولوگ، منجر می‌شود^(۱۰). بر اساس نتایج تحقیق حاضر، LhPRP محرکی قابل توجه برای بازسازی استخوان در نواحی دچار نقص شده است. در هفته دوم پس از عمل جراحی، شواهد رادیولوژیک نشان می‌دهد که ناحیه نقص در گروه LhPRP در مرحله بازسازی قرار دارد و ترمیم استخوان در این گروه از گروه کنترل سریع‌تر انجام شده است. همچنین، در هفته هشتم، مرحله ترمیم در گروه کنترل ناکافی است که این موضوع را تحلیل داده‌های آسیب‌شناسی بافتی نیز تأیید می‌کند. تحلیل‌ها نشان داده‌اند که فرایند استئوژنز در گروه LhPRP در روز ۵۶ پس از عمل جراحی از گروه کنترل پیشرفته‌تر بوده است. انواع گوناگونی از عوامل رشد مانند ایزومرهای PDGF، TGF- β 1، TGF- β 2، IGF-I، IGF-II و VEGF در LhPRP وجود دارند که می‌توانند بازسازی استخوان را تقویت کنند. همچنین، PDGF دارای ویژگی‌های میتوزی برای استئوبلاست‌ها است^(۱۱) و محرک مهاجرت سلول‌های پیش‌ساز مزانشیمی نیز هست^(۱۲). ویژگی‌های تشکیل کالوس PDGF در نقص‌های استخوانی پیش‌تر در مدل‌های حیوانی به اثبات رسیده است^(۱۳). TGF- β نیز دارای خواص استئوژنتیک است و عاملی بازدارنده در بازجذب استخوان است^(۱۴). گزارش‌های دیگری نشان داده‌اند که IGF و VEGF می‌توانند بازسازی استخوان در حیوانات آزمایشگاهی را تقویت

انگیزه اصلی مطالعه حاضر افزودن شفافیت بیشتر در خصوص کاربرد و اثربخشی LhPRP و همچنین ارائه دیدگاه‌های تکمیلی درباره خواص LhPRP، امتنوم و ترکیب امتنوم-LhPRP در بازسازی استخوان بود. همان‌طور که پیش‌تر اشاره شده است، این نوع نقص استخوانی در خرگوش‌ها لزوماً به روش‌های فیکساسیون داخلی یا خارجی برای دستیابی به ترمیم نیازی ندارد. بنابراین، این مدل برای جراحی‌های بازسازی استخوان مناسب گزارش شده است^(۵). به‌منظور جلوگیری از ترمیم سریع خودبه‌خودی، شکاف ایجاد شده در ناحیه میانی رادیوس به عرض ۱۰ میلی‌متر انتخاب شد^(۵). با توجه به داده‌های متناقض موجود درباره اثربخشی LhPRP، ویژگی‌های استئوژنیک آن هنوز به تحقیقات بیشتری نیاز دارد. نتایج تحقیق حاضر نشان می‌دهد که بهره‌گیری از LhPRP ممکن است ویژگی‌های بازسازی استخوان را به‌طور مؤثری تقویت کند^(۶، ۷). با وجود این، استفاده از LhPRP همراه با اتوگرافت، آلوگرافت یا مواد جایگزین معدنی استخوان افزایش چشمگیری در فرایند بازسازی استخوان نشان نداد^(۷، ۸). مطالعه دیگری نشان داد که LhPRP به تشکیل استخوان ضعیف‌تری در نقص جمجمه خرگوش، چه به‌تنهایی و

کنند^(۱۵،۱۶). این فرایند به نظر می‌رسد کار بهبود و افزایش بازسازی استخوان در گروه LhPRP در مقایسه با گروه کنترل را بر عهده دارد. اگرچه LhPRP حاوی BMPها نیست، به‌عنوان پروتئین‌هایی شناخته می‌شوند که بیشترین قدرت استخواندکتیو را دارند و باعث تمایز استئوبلاست‌ها از سلول‌های بنیادی و القای تشکیل استخوان خارج از محل طبیعی می‌شوند^(۱۷). گزارش شده است که استفاده از دوزهای بالاتر LhPRP در ترمیم نقص جمجمه مینی‌خوک‌ها نتایج بهتری از غلظت‌های پایین‌تر پلاکت داشته است^(۱۸،۱۹)، اگرچه برخی تحقیقات تجربی دیگر ارتباط بین غلظت پلاکت و افزایش ترمیم استخوان را تأیید نمی‌کنند^(۲۰،۲۱). از آنجا که امتنوم دارای عروقی شدن مناسبی است، مقدار چشمگیری مواد مغذی، اکسیژن و عوامل رشد و آنژیوژن را در خود جای داده است و پیوند آن می‌تواند شرایط مناسبی برای تشکیل استخوان فراهم کند^(۲۱). افزایش غلظت اکسیژن به جریان عروقی کافی وابسته است که می‌تواند به تحریک تولید سلول‌های پیش‌ساز استخوانی از سلول‌های مزانشیمی اطراف عروق منجر شود^(۲۲). در حین فرایند آنژیوژن VEGF باعث افزایش نفوذپذیری مویرگ‌ها می‌شود^(۲۳) و همچنین سطوح بالایی از اکسیژن را فراهم می‌کند که هر دو از عوامل مؤثر در تقویت استئوژن در استخوان‌های دچار نقص به‌شمار می‌آیند^(۲۱). این فرایند، که موجب القای بافت استخوانی می‌شود، در گروه امتنوم در مقایسه با گروه کنترل پیشرفته‌تر مشاهده شده است که احتمالاً به دلیل کمبود تعداد عروق خونی در ناحیه نقص گروه کنترل در مقایسه با گروه امتنوم است. علاوه بر این، در فرایند بازسازی بافت، میزان کافی اکسیژن موجود در این بافت اهمیت زیادی دارد، زیرا باعث بهبود فاگوسیتوز و پیشگیری از عفونت می‌شود^(۲۴). این معیار نیز به‌عنوان دلیلی برای استفاده از امتنوم به‌عنوان پیوند اتولوگ به‌شمار می‌رود. به همین ترتیب، امتنوم با آزادسازی عوامل آنژیوژنیک و رشد ماکروفاژها را فعال می‌کند و این فرایند در نهایت به رشد مویرگ‌های جدید و نفوذ آن‌ها به بافت فیبری منجر می‌شود^(۲۴).

کریم و همکاران (Karim et al.) در مطالعه‌ای نشان داده‌اند که گروه‌های ترکیبی امتنوم-کورال، در روز ۶۰ام پس از عمل جراحی، بهبود چشمگیری در ارزیابی‌های رادیولوژیک و آسیب‌شناسی بافتی داشتند^(۲۵).

بیغم و همکاران (Bigam et al.) اثبات کرده‌اند که گروه‌های کشت امتنوم و سلول‌های بنیادی مزانشیمی امتنوم (ASCs) پتانسیل استئوژنیک بهتری در ترمیم نقص استخوان رادیوس دارند^(۲۶). در مطالعه حاضر، کاربرد هم‌زمان امتنوم همراه با LhPRP در مقایسه با گروه کنترل به بهبود بهتر بازسازی استخوان منجر شده است. یافته‌های رادیولوژیک و آسیب‌شناسی بافتی این مطالعه نشان داد که ترمیم نقص در گروه کنترل به اندازه کافی مؤثر نبوده است و بیشتر شکاف نقص با بافت فیبری پر شده و به‌ندرت غضروف به جای بافت استخوانی دیده شده است. بارنز و همکاران (Barnes et al.) نشان دادند که کندروسیت‌های مشتق شده از مزانشیم تکثیر می‌شوند و به ماتریکس غضروفی تبدیل می‌شوند. هسته‌های غضروفی مجزا رشد می‌کنند و با هم ترکیب می‌شوند تا یک پلاگ فیبروغضروفی مرکزی بین قطعات شکسته ایجاد کنند که این امر

نتیجه‌گیری

با توجه به نتایج به‌دست‌آمده به نظر می‌رسد که پودر LhPRP به‌تنهایی و همچنین همراه با امتنوم اتوژن، در نقص‌های استخوانی آزمایشگاهی در مدل حیوانی، پس از ۵۶ روز، فقط در ارزیابی‌های رادیولوژیک و آسیب‌شناسی بافتی باعث افزایش خواص بازسازی استخوان می‌شود.

منابع

- Blajchman M. Novel platelet products, substitutes and alternatives. *Transfusion clinique et biologique*. 2001;8(3):267-71.
- Lane JM, Sandhu HS. Current approaches to experimental bone grafting. *Orthopedic Clinics of North America*. 1987;18(2):213-25.
- Close B, Banister K, Baumans V, Bernoth E-M, Bromage N, Bunyan J, et al. Recommendations for euthanasia of experimental animals: Part 2. *Laboratory animals*. 1997;31(1):1-32.
- Emery SE, Brazinski MS, Koka A, Bensusan JS, Stevenson S. The biological and biomechanical effects of irradiation on anterior spinal bone grafts in a canine model. *The Journal of bone and joint surgery American volume*. 1994;76(4):540-8.
- Bensen C, AN YH FR. Preclinical Evaluation of Bone Graft Substitutes. ed) Wise DL *Biomaterials and bioengineering handbook* Cambridge Scientific Inc, Belmont, Massachusetts, Merck Decker Inc. 2000.

- 6 Creeper F, Lichans a AM, Marshall RI, Seymour GJ, Ivanovs i S. The effect of platelet-rich plasma on osteoblast and periodontal ligament cell migration, proliferation and differentiation. *J Periodontal Res.* 2009;44(2):258-65.
- 7 Pieri F, Lucarelli E, Corinaldesi G, Fini M, Aldini NN, Giardino R, et al. Effect of mesenchymal stem cells and platelet-rich plasma on the healing of standardized bone defects in the alveolar ridge: a comparative histomorphometric study in minipigs. *Journal of Oral and Maxillofacial Surgery.* 2009;67(2):265-72.
- 8 Froum SJ, Wallace SS, Tarnow DP, Cho S-C. Effect of platelet-rich plasma on bone growth and osseointegration in human maxillary sinus grafts: three bilateral case reports. *International Journal of Periodontics and Restorative Dentistry.* 2002;22(1):45-54.
- 9 Raghoebar GM, Schortinghuis J, Liem RS, Ruben JL, Van Der Wal JE, Vissink A. Does platelet-rich plasma promote remodeling of autologous bone grafts used for augmentation of the maxillary sinus floor? *Clinical Oral Implants Research.* 2005;16(3):349-56.
- 10 Aghaloo TL, Moy PK, Freymiller EG. Investigation of platelet-rich plasma in rabbit cranial defects: a pilot study. *Journal of Oral and Maxillofacial Surgery.* 2002;60(10):1176-81.
- 11 Pal US, Mohammad S, Singh RK, Das S, Singh N, Singh M. Platelet-rich growth factor in oral and maxillofacial surgery. *National journal of maxillofacial surgery.* 2012;3(2):118.
- 12 Fiedler J, Röderer G, Günther KP, Brenner RE. BMP-2, BMP-4, and PDGF-bb stimulate chemotactic migration of primary human mesenchymal progenitor cells. *Journal of cellular biochemistry.* 2002;87(3):305-12.
- 13 Nash T, Howlett C, Martin C, Steele J, Johnson K, Hicklin D. Effect of platelet-derived growth factor on tibial osteotomies in rabbits. *Bone.* 1994;15(2):203-8.
- 14 Kasagi S, Chen W. TGF-beta1 on osteoimmunology and the bone component cells. *Cell & bioscience.* 2013;3(1):4.
- 15 Spencer E, Liu C, Si E, Howard G. In vivo actions of insulin-like growth factor-I (IGF-I) on bone formation and resorption in rats. *Bone.* 1991;12(1):21-6.
- 16 Street J, Bao M, deGuzman L, Bunting S, Peale FV, Ferrara N, et al. Vascular endothelial growth factor stimulates bone repair by promoting angiogenesis and bone turnover. *Proceedings of the National Academy of Sciences.* 2002;99(15):9656-61.
- 17 Cook SD. Preclinical and clinical evaluation of osteogenic protein-1 (BMP-7) in bony sites. *Orthopedics.* 1999;22(7):669-71.
- 18 Schlegel K, Donath K, Rupprecht S, Falk S, Zimmermann R, Felszeghy E, et al. De novo bone formation using bovine collagen and platelet-rich plasma. *Biomaterials.* 2004;25(23):5387-93.
- 19 Thorwarth M, Rupprecht S, Falk S, Felszeghy E, Wiltfang J, Schlegel K. Expression of bone matrix proteins during de novo bone formation using a bovine collagen and platelet-rich plasma (prp)—an immunohistochemical analysis. *Biomaterials.* 2005;26(15):2575-84.
- 20 Kim S-G, Kim W-K, Park J-C, Kim H-J. A comparative study of osseointegration of Avana implants in a demineralized freeze-dried bone alone or with platelet-rich plasma. *Journal of Oral and Maxillofacial Surgery.* 2002;60(9):1018-25.
- 21 Glowacki J. Angiogenesis in fracture repair. *Clinical Orthopaedics and Related Research®.* 1998;355:S82-S9.
- 22 Moore MA. Putting the neo into neoangiogenesis. *The Journal of clinical investigation.* 2002;109(3):313-5.
- 23 Deckers MM, Karperien M, van der Bent C, Yamashita T, Papapoulos SE, Löwik CW. Expression of vascular endothelial growth factors and their receptors during osteoblast differentiation. *Endocrinology.* 2000;141(5):1667-74.
- 24 Shimotsuma M, Shields J, Simpson-Morgan M, Sakuyama A, Shirasu M, Hagiwara A, et al. Morpho-physiological function and role of omental milky spots as omentum-associated lymphoid tissue (OALT) in the peritoneal cavity. *Lymphology.* 1993;26(2):90-101.
- 25 Karimi I, Bigham-Sadegh A, Oryan A, Dowlat Abadi M. Concurrent use of greater omentum with Persian Gulf coral on bone healing in dog: a radiological and histopathological study. *Iranian Journal of Veterinary Surgery.* 2013;8(2):35-42.
- 26 Bigham-Sadegh A, Mirshokraei P, Karimi I, Oryan A, Aparviz A, Shafiei-Sarvestani Z. Effects of adipose tissue stem cell concurrent with greater omentum on experimental long-bone healing in dog. *Connective tissue research.* 2012;53(4):334-42.
- 27 Barnes GL, Kostenuik PJ, Gerstenfeld LC, Einhorn TA. Growth factor regulation of fracture repair. *Journal of Bone and Mineral Research.* 1999;14(11):1805-15.
- 28 Plachokova A, Van den Dolder J, Van Den Beucken J, Jansen J. Bone regenerative properties of rat, goat and human platelet-rich plasma. *International journal of oral and maxillofacial surgery.* 2009;38(8):861-9.