

## مقایسه روند ترمیم و اتحاد در پیوند استخوان آلوگرافت از منشأ داخل غشایی با آلوگرافت از منشأ داخل غضروفی

سعید بابایی<sup>۱</sup>، سعید چنگیزی آشتیانی<sup>۲</sup>، دکتر حمید گرامی<sup>۳</sup>، دکتر علیرضا جمشیدی فرد<sup>۴</sup>، محمد رفیعی<sup>۵</sup>

### چکیده

**مقدمه:** امروزه پیوند استخوان<sup>۶</sup> امری اجتناب ناپذیر است. در واقع اگر چه اتوگرافت<sup>۷</sup> از نقطه نظرات گوناگون بهترین انتخاب است اما وجود برخی شرایط مثل انجام دو عمل جراحی به طور همزمان روی یک فرد، محدود بودن اندازه، ابعاد و غیره سبب شده است تا متخصصین امر به جایگزین مناسب اتوگرافت یعنی آلوگرافت<sup>۸</sup> نیز بیاندیشند.

**روش کار:** طی یک مطالعه تجربی ۱۷ سر خرگوش نیوزلندی به چهار گروه تقسیم شدند. گروه مولد قطعات پیوندی شامل یک سر خرگوش نر بود که از ژنتیکی با خرگوش‌های دیگر کاملاً تفاوت داشت. گروه ششم متشکل از ۳ سر خرگوش بود که قطعات اتوگرافت مدور به قطر ۴ میلی متر از استخوان تیبیای آن‌ها بدون انجام هر گونه عملیات خاص، بین پای چپ و راست آن‌ها معاوضه و پیوند شد. در همین گروه در استخوان تیبیا سوراخی به قطر ۴ میلی متر ایجاد شد تا احتمال پر شدگی خود به خود آن پس از ۳ ماه مورد بررسی قرار گیرد. در گروه شاهد (۳ خرگوش) قطعات استخوانی به قطر ۴ میلی متر از تیبیای خرگوش‌ها پس از انجام عملیات آنتی ژن زدایی دوگانه (دمینرالیزاسیون<sup>۹</sup> و فریزدرای یا FD<sup>۱۰</sup>) مجدداً به همان ناحیه برداشت قطعات پیوند زده شدند. در گروه آزمایش (۱۰ سر خرگوش) تیبیای چپ آن‌ها یک آلوگرافت کورتیکوکانسلوس<sup>۱۱</sup> (CTC) از منشأ جمجمه (داخل غشایی) و تیبیای راست آن‌ها نیز یک آلوگرافت از نوع CTC از منشأ لگن (داخل غضروفی) دریافت نمودند و به مدت ۳ ماه مورد پیگیری قرار گرفتند.

**نتایج:** یافته‌های این پژوهش نشان دهنده آن بود که میزان موفقیت برای گرافت‌های داخل غشایی جمجمه‌ای، ۸۰ درصد و برای گرافت‌های داخل غضروفی لگنی، ۶۰ درصد بوده است. در گروه ششم سرعت اتحاد ترمیم بسیار سریع بود (۸ هفته). در گروه شاهد روند ترمیم تا هفته ششم پس از انجام پیوند از کندی مشخصی برخوردار بود که تا هفته دوازدهم جبران گردید. سوراخ‌های خالی در تیبیا گروه ششم حتی پس از ۳ ماه نیز ترمیم نگردیدند. همچنین احتمال گرفتن پیوند و سرعت روند ترمیم برای هر دو نوع پیوند اختلاف آماری معنی داری را نشان نداد ( $P > 0.05$ ).  
**بحث:** اگر چه تعداد موارد موفقیت پیوند در گرافت‌های CTC از منشأ داخل غشایی بیشتر از موارد CTC از منشأ داخل غضروفی بوده است، اما این تفاوت از نظر آماری معنی دار نبود. بررسی نتایج میکروسکوپی نیز حاکی از آن بود که استفاده از قطعات استخوانی داخل غشایی از سرعت بهتری در روند ترمیم و اتحاد برخوردار است.  
**واژگان کلیدی:** پیوند استخوان، آنتی ژن زدایی، اتوگرافت، آلوگرافت، خرگوش.

6. Bone graft.

7. Autograft.

8. Allograft.

9. Demineralization.

10. Freeze dry.

11. Corticocancellous (CTC).

- عضو هیأت علمی گروه آناتومی، دانشگاه علوم پزشکی اراک.

- عضو هیأت علمی گروه فیزیولوژی، دانشگاه علوم پزشکی اراک.

- متخصص اورتوپدی.

- عضو هیأت علمی گروه فیزیولوژی، دانشگاه علوم پزشکی اراک.

- عضو هیأت علمی گروه آمار پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی اراک.

## مقدمه

امروزه پیوند اعضا امری ضروری و اجتناب ناپذیر است و هر روز دامنه تحقیقات در زمینه تسهیل این امر گسترده تر می‌گردد. در این بین پیوند استخوان از جایگاه خاصی برخوردار است. در آمریکا در سال ۱۹۹۹ حدود ۶/۲ میلیون مورد شکستگی گزارش شده است (۱). در سال ۱۹۹۹ در همین کشور حدود ۶۵۰ هزار مورد پیوند استخوان صورت گرفته است (۲). پیوندهای استخوان با گستردگی وسیعی که در زمینه‌های ارتوپدی، جراحی مغز و اعصاب، جراحی پرئو و سایر زمینه‌ها یافته‌اند، انگیزه فراوانی را برای انجام تحقیقات فراوان در این زمینه فراهم آورده‌اند.

اگر چه از بین انواع پیوندهای ممکن، پیوند اتوگرافت از نقطه نظرات گوناگون بهترین انتخاب است اما برخی شرایط نظیر انجام دو عمل جراحی همزمان در یک فرد، محدود بودن اندازه، احتمال وقوع خونریزی و افزایش احتمال عفونت سبب شده است تا به جایگزین مناسب آن یعنی آلوگرافت‌ها نیز توجه خاصی شود. از سال ۱۹۸۵ تا سال ۱۹۹۵ در یک دوره ده ساله در کشور آمریکا فراوانی وقوع آلوگرافت‌ها از ۱۵۰۰۰ مورد در سال به ۱۴۵۰۰۰ مورد در سال افزایش یافته است (۳).

اصولاً در هر پیوند استخوان نکته قابل توجه آن است که بتوانیم چهار خاصیت بسیار مهم را در عمل پیوند تا حد ممکن افزایش دهیم. این خصوصیات عبارتند از: استئوژنیسیته یا OSG<sup>۱</sup> (۴)، استئواینداکشن یا OSI<sup>۲</sup> (۴)، استئوکانداکشن یا OSC<sup>۳</sup> (۴) و توانایی در عدم تحریک سیستم ایمنی میزبان و یا کمتر تحریک کردن سیستم ایمنی میزبان (۵، ۶).

از آن جا که آلوگرافت‌های تازه - آلوگرافتی که عملیات آنتی ژن زدایی روی آن‌ها صورت نگرفته است - طی یک پاسخ شدید سیستم ایمنی میزبان طرف مدت کوتاهی دفع می‌شوند (۷، ۸، ۹)، راه حلی غیر از به کارگیری روش‌های آنتی ژن زدایی وجود ندارد. تحقیقات قبلی بیانگر آن می‌باشند که هنوز هیچ قاطعیتی در مورد آن که کدام روش آنتی ژن زدایی بهتر است وجود ندارد. هر قدر یک قطعه پیوندی سیستم ایمنی میزبان را بیشتر تحریک کند، میزان قابلیت OSI را بیشتر کاهش می‌دهد (۱۰)؛ لذا در آلوگرافت‌ها سعی هر چه بیشتر برای کم کردن خاصیت آنتی ژنی مفیدتر است. در همین رابطه روش‌هایی که سبب کاهش

خاصیت آنتی ژنیک قطعات پیوندی می‌شوند، کاربری وسیعی یافته‌اند. یکی از این روش‌ها شیوه FD است. در این شیوه از آن جا که سلول‌های قطعه پیوندی از بین می‌روند، خاصیت آنتی ژنی کاهش می‌یابد و قطعه پیوندی به خوبی توسط میزبان تحمل می‌شود (۳). در عین حال این روش هیچ اثر مضر بر قابلیت OSI قطعه پیوندی ندارد (۱۱، ۱۲).

در ارتباط با شدت دمای لازم برای فریزکردن قطعات پیوندی طی عملیات FD مطالعات نشان می‌دهند که فریزکردن قطعات در دمای ۴- تا ۷۰- درجه سانتی‌گراد نیز اثر نامطلوبی بر OSI ندارد (۱۳) و قطعاتی که در زیر دمای ۲۰- درجه سانتی‌گراد تهیه می‌شوند استحکام مکانیکی خود را از دست نمی‌دهند (۱۴). با این حال هنوز هیچ قطعیتی برای گفتن آن که مطلوب‌ترین دما کدام است، وجود ندارد. در عین حال در ارتباط با حرارت دادن به قطعات پیوندی در هنگام عملیات FD تحقیقات مبین آن است که استفاده از دمای حداکثر ۸۰ درجه سانتی‌گراد شرایط بهتری را برای حفظ قابلیت OSI فراهم می‌نماید (۱۵) و استفاده از دمای بیشتر سبب کاهش قابلیت فوق می‌گردد.

در ارتباط با دمینرالیزاسیون قطعات پیوندی توجه به چند نکته حایز اهمیت است. دمینرالیزه کردن بافت استخوانی نقش مهمی در افزایش OSI از طریق حفظ و ارائه استئوژنین‌ها از جمله BMP<sup>۴</sup> دارد (۱۵، ۱۶). در واقع هر قدر شدت دمینرالیزاسیون را افزایش دهیم، شرایط بهتری برای ارائه ترکیبات OSI فراهم نموده‌ایم (۱۷). اگر مقدار ماده معدنی استخوان به حدود ۴۰ درصد کاهش یابد، حداکثر قابلیت OSI را می‌توان انتظار داشت (۱۷). این امر سبب کاهش قابلیت استحکام قطعه پیوندی نیز می‌گردد؛ لذا رعایت اعتدال در این زمینه منطقی به نظر می‌رسد.

نکته قابل توجه دیگر آن است که استفاده از آلوگرافت‌های با منشأ جنینی داخل غشایی دارای ضریب موفقیت بیشتری نسبت به آلوگرافت‌های داخل غضروفی است (۱۸). با این حال هنوز سؤالاتی در این رابطه بی‌پاسخ مانده است. نخست آن که آیا این امر به دلیل اختلاف منشأ جنینی این استخوان‌ها می‌باشد و یا نوع

1. Osteogenicity.
2. Osteoinduction.
3. Oseoconduction.
4. Bone morphogenetic protein (BMP).

چپ خود و در ناحیه استخوان تیبیا، ۱۰ قطعه پیوندی آلوگرافت از نوع CTC با منشا استخوان جمجمه<sup>۲</sup> (CTCI) دریافت نمودند. همین خرگوش‌ها در پای راست خود یک قطعه پیوندی آلوگرافت دریافت نمودند که از نوع استخوان CTC با منشا اندوکوندرال<sup>۳</sup> (CTCE) استخوان لگن بود. این قطعات پیوندی نیز از استخوان لگن خرگوش مولد قطعات پیوندی تهیه شده بودند. مراحل مختلف این پژوهش به شرح زیر انجام شدند:

**الف - تهیه قطعات پیوندی از خرگوش مولد قطعات پیوندی:** این خرگوش که هیچ‌گونه ارتباط فامیلی با سایر خرگوش‌ها نداشت، ابتدا توسط ۲ میلی لیتر محلول کتامین حاوی ۱۰۰ میلی‌گرم کتامین و یک میلی لیتر محلول رامپون حاوی ۲۰ میلی‌گرم زایلازین که از طریق عضلانی به عضله ران وی تزریق گردید، بیهوش شد (مدت زمان لازم برای بیهوش شدن حدود ۱۰ دقیقه و طول مدت بیهوشی نیز حدود ۲۰ دقیقه بود). این خرگوش سپس توسط محلول اتر که در یک ظرف سر بسته بزرگ به همراه خرگوش بیهوش ریخته شد به هلاکت رسید. آن‌گاه با استفاده از یک مته مخصوص از جنس برنج که داخل آن سوراخی به قطر ۴ میلی متر تعبیه شده بود و جدار خارجی مته تا حد ممکن نازک شده بود، تعداد ۱۰ قطعه پیوندی از استخوان جمجمه این خرگوش برداشته شد. این قطعات (CTCI) منشا داخل غشایی داشته و در محلول بتادین و در یک ظرف سر بسته استریل نگهداری می‌شدند. با استفاده از همین مته مخصوص ۱۰ قطعه پیوندی دیگر از ناحیه استخوان لگن خرگوش تهیه شد. این قطعات دارای منشا داخل غضروفی از نوع CTCE داشتند و ظرف استریل جداگانه و حاوی محلول بتادین نگهداری می‌شدند.

**ب - دمینرالیزه کردن قطعات پیوندی (۲۰،۲۱):** از آن جاکه قطعات پیوندی به دو گروه مختلف تقسیم شدند (قطعات جمجمه و قطعات لگن)؛ لذا جهت انجام عملیات دمینرالیزاسیون برای هر گروه قطعه پیوندی ۴ ظرف استریل تهیه شد. در این ظروف به ترتیب محلول ۰/۰۱ مولار اسید کلریدریک، ۰/۱ مولار اسید کلریدریک و ۰/۶ مولار اسید کلریدریک، ۰/۶ مولار اسید کلریدریک و ۰/۶ مولار اسید کلریدریک و محلول‌های سوزآور ریخته شد. سپس تمامی این ظروف و محلول‌های

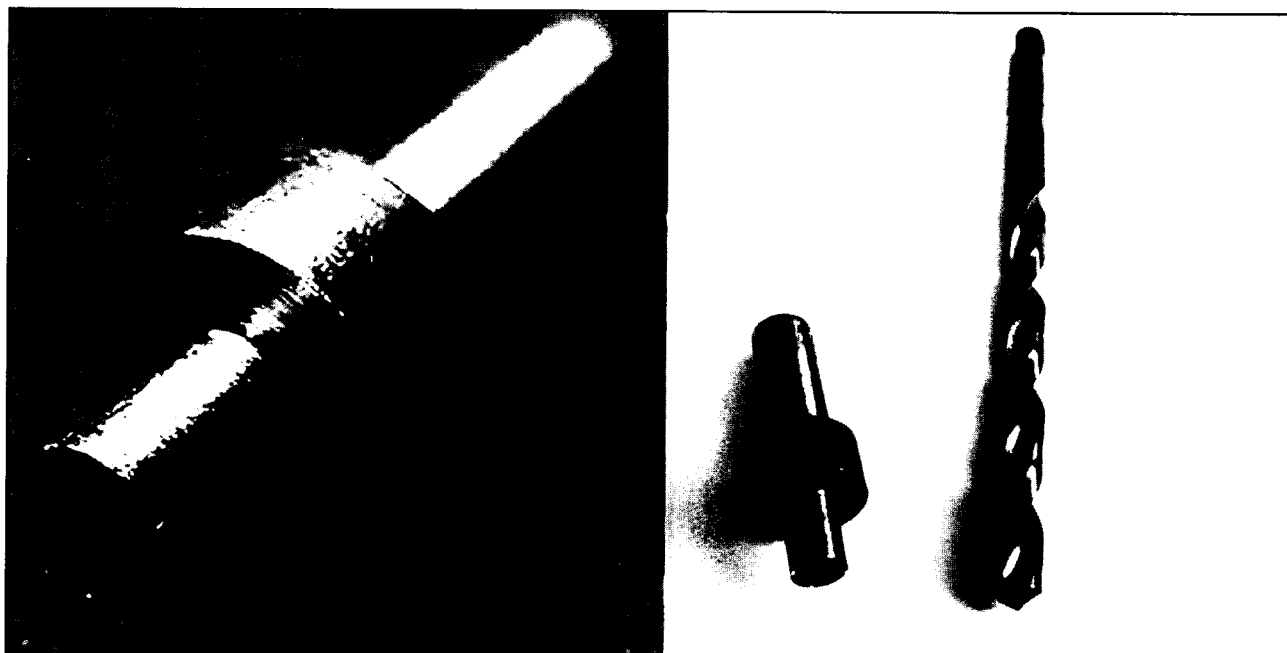
استخوان در این مسأله دخیل است؛ بدین مفهوم که آیا استخوان‌های مقایسه شده هر دو از نوع CTC بوده‌اند و یا این که یک استخوان CTC از منشاء داخل غشایی با یک استخوان کورتیکال<sup>۱</sup> از منشا داخل غضروفی مقایسه شده است؟ در عین حال پژوهش‌های دیگر مبین آن هستند که قطعات آلوگرافت دمینرالیزه کورتیکال و کانسولوس زمانی که مورد ارزیابی قدرت OSI قرار گرفتند، این توانایی برای نوع کورتیکال بیشتر بوده است (۱۹،۲۰). جهت سنجش این مسأله در تحقیق حاضر قطعات پیوندی CTC با منشا داخل غشایی با قطعات پیوندی CTC از منشا داخل غضروفی به طور همزمان پیوند شدند تا احتمال نقش عامل مهمتر مشخص شود. در عین حال در هنگام FD نمودن قطعات پیوندی از دمای ۱۲- درجه سانتی‌گراد استفاده شد. این امر به دو دلیل بود. نخست آن که امکان فریزر ۷۰- درجه سانتی‌گراد و کمتر در اکثر مراکز درمانی و بیمارستان‌ها وجود ندارد. دوم آن که اگر دمای ۱۲- درجه سانتی‌گراد نیز بتواند پاسخگوی روش FD باشد، امکان انجام عملیات آنتی ژن زدایی را در هر مرکز مجهز به اتاق عمل میسر خواهد ساخت.

## روش کار

این مطالعه از نوع تجربی آزمایشگاهی بود که در سال ۱۳۸۱ در آزمایشگاه تحقیقات دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی اراک صورت پذیرفت. جهت انجام این پژوهش ۱۷ سر خرگوش نیوزلندی بالغ به وزن ۲ کیلوگرم تهیه شده از مؤسسه رازی مورد استفاده قرار گرفتند. این خرگوش‌ها به چهار گروه به شرح زیر تقسیم شدند:

- ۱- گروه مولد قطعات پیوندی: شامل یک سر خرگوش نر بود که ۳۰ قطعه پیوندی از آن تهیه گردید و از نظر ژنتیکی کاملاً با ۱۶ سر خرگوش دیگر اختلاف داشت.
- ۲- گروه شم: شامل ۳ سر خرگوش بود که قطعات پیوندی اتوگرافت بین تیبیای پای چپ و راست آن‌ها معاوضه شد.
- ۳- گروه شاهد: شامل ۳ سر خرگوش بود که قطعات پیوندی اتوگرافت پس از آنتی ژن زدایی دوگانه (دمینرالیزاسیون و FD) بین تیبیای پای چپ و راست آن‌ها معاوضه شد.
- ۴- گروه آزمایش: متشکل از ۱۰ سر خرگوش بود که در پای

1. Cortical.  
2. Intramembranous.  
3. Endochondral.



تصویر ۱- مته مخصوص جهت برداشت قطعات پیوندی از جنس برنج مجهز به سوراخی به قطر ۴ میلی متر در مرکز و لبه برنده ۱۰۰ میکرونی و تصویر مته به کار رفته جهت سوراخ کردن محل کارگذاری پیوند به قطر ۴ میلی متر.

حدود ۲۰ دقیقه طول می کشید. سپس موهای پوست خرگوش در ناحیه داخلی تیبیا تراشیده می شد و برشی به طول ۱/۵ سانتی متر در پوست ناحیه تیبیا و در فاصله ۲ سانتیمتری از مفصل زانو ایجاد می گردید.

پس از ایجاد برش طولی در عضله پوشاننده ناحیه مورد نظر و کنار زدن عضله، با استفاده از یک دستگاه دریل برقی و مته به قطر ۴ میلی متر سوراخی در استخوان تیبیا به فاصله ۲ سانتیمتر از مفصل زانو تعبیه می شد. دریل برقی از دو روز قبل از انجام عملیات در ظرفی سر بسته حاوی فرمالین نگهداری می شد؛ لذا دریل و فضاهای داخلی آن توسط بخار فرمالین اشباع شده بود. هنگام سوراخ کردن استخوان به دو نکته توجه می شد: نخست آن که در هنگام سوراخ کردن با پاشیدن سرم فیزیولوژی استریل توسط سرنگ، از داغ شدن استخوان و مته جلوگیری گردد و دوم آن که دریل باید طوری نگهداری شود که پس از سوراخ شدن استخوان مغز استخوان را تخریب نکند.

موجود در آن مجدداً توسط اتوکلاو استریل گردیدند. با در نظر گرفتن زمان، قطعات پیوندی هر گروه در ردیف ظروف مخصوص به خود و در هر ظرف به مدت ۱۰ دقیقه قرار داده می شد و سپس به ظرف بعدی منتقل می گردید (هنگام عبور دادن قطعات پیوندی از یک ظرف به ظرف بعدی، این قطعات توسط آب مقطر شستشو داده می شدند). این عملیات ۵ بار تکرار گردید. بدین ترتیب هر قطعه پیوندی به مدت ۵۰ دقیقه در معرض محلول های فوق بود. پس از اتمام این عملیات قطعات پیوندی مجدداً به ظروف استریل حاوی بتادین منتقل گردیدند.

ج - پیوند زدن قطعات استخوانی: ابتدا خرگوش مورد نظر توسط ۲ میلی لیتر محلول کتامین حاوی ۴۰ میلی گرم کتامین و یک میلی لیتر محلول رامپون حاوی ۲۰ میلی گرم محلول زایلازین که هر یک جدا گانه توسط سرنگ استریل به عضله ران چپ و راست خرگوش تزریق می گردیدند، بیهوش می شد (۲۷، ۲۸). مدت زمان لازم برای بیهوش شدن حدود ۱۰ دقیقه بود و بیهوشی

## نتایج

جدول ۱، میزان موفقیت انواع گرافت‌ها را با توجه به منشأ جنینی و نوع استخوان آن‌ها نشان می‌دهد. نتیجه آزمون آماری فیشر مبین آن بود که زمانی که مقایسه میزان موفقیت قطعات CTCI با قطعات پیوندی CTCE مورد نظر می‌باشد، توزیع موارد قبول یا رد پیوند در دو گروه یکسان است و شانس قبول پیوند در مقایسه گروه اول با گروه دوم برابر با  $0/38$  ( $2/77 - 0/05$ ) است که از نظر آماری معنی دار نبود ( $p > 0/05$ ).

بررسی میکروسکوپی گرافت‌های اتولوگ گروه ششم مبین وقوع کامل اتحاد در پایان ماه اول بود به گونه‌ای که در پایان ماه دوم تشخیص ماکروسکوپی محل پیوند به سختی میسر بود. این امر در تصویر رادیولوژی تهیه شده از موضع پیوند قابل تشخیص بود (تصویر ۲).

بررسی میکروسکوپی گرافت‌های اتولوگ گروه کنترل نشان دهنده یک تأخیر در روند ترمیم تا پایان هفته ششم بود، اما مشاهده میکروسکوپی جایگاه پیوند در پایان ماه دوم نشان دهنده وقوع اتحاد بود. اتحاد کامل در پایان ماه سوم به وقوع پیوست (تصویر ۳).

سوراخ‌های خالی در استخوان تیبیای گروه ششم حتی پس از سه ماه نیز ترمیم نگردید و یکی از آن‌ها منجر به شکستن استخوان تیبیا شد (تصویر ۴).

با توجه به بررسی مقاطع میکروسکوپی تهیه شده از انواع پیوندها در این مطالعه، جدول ۲ بر اساس ترتیب زمانی رخدادها تنظیم گردید. نتایج جدول ۲ نشان می‌دهد که هر دو نوع پیوند از نظر قدرت تحریک سیستم ایمنی میزبان در شرایط مشابهی به سر می‌برند، اما به هر حال مطالعات میکروسکوپی time lapse پیوندها بیانگر آن است که پیوندهای CCI در قابلیت ایجاد زمینه مناسب برای آغاز تهاجم عروق خونی در شرایط مطلوب‌تری به سر می‌برند.

پس از ایجاد سوراخ قطعه پیوندی مورد نظر در سوراخ قرار می‌گرفت و چون قطر سوراخ و قطر قطعه پیوندی یکسان بود، نیازی به فیکساتیو نبود و سوراخ به خوبی قطعه پیوندی را نگه می‌داشت. پس از انجام عملیات کاشت قطعه پیوندی، عضله و پوست بخیه شده و پانسمان می‌گردید. به هر خرگوش پس از اتمام جراحی جهت تسکین درد ۸ میلی گرم سولفات مورفین تزریق می‌شد و برای پیشگیری از وقوع عفونت به هر خرگوش ۱۰ میلی گرم جنتامایسین تزریق می‌گردید. تزریق جنتامایسین تا ۴ روز پس از انجام جراحی به صورت روزانه تکرار می‌شد.

د - پیگیری روند ترمیم و اتحاد پیوندها به کمک تصویر رادیولوژی: هر دو هفته یک بار از هر گروه، ۲ سر خرگوش به صورت تصادفی انتخاب می‌شدند و برای تهیه تصاویر رادیولوژی به مرکز رادیولوژی منتقل می‌گردیدند تا از موضع پیوند عکس تهیه شود. به این ترتیب تا پایان دوره سه ماهه پیگیری، از هر گروه حداقل ۱۲ تصویر رادیولوژی تهیه شد.

ه - پیگیری روند ترمیم و اتحاد پیوندها به کمک مقاطع بافت شناسی (۲۳): از خرگوش‌های گروه آزمایش (که در استخوان تیبیای خود قطعات پیوندی با منشأ داخل غضروفی یا داخل غشایی دریافت کرده بودند. در آخر هفته اول یک سر خرگوش و در آخر هفته دوم نیز یک سر خرگوش به صورت تصادفی انتخاب می‌شدند. سپس هر دو هفته یک بار تا پایان ماه دوم، در هر وعده دو خرگوش و در هفته ۱۰ و هفته ۱۲ در هر وعده یک سر خرگوش به صورت تصادفی انتخاب می‌گردید. خرگوش‌ها پس از بیهوش کردن توسط اتر در ظرف سر بسته به هلاکت می‌رسیدند. سپس استخوان تیبیای آن‌ها از بدن جدا می‌شد و توسط اره مویی از دو سوزناحیه  $0/5$  سانتی متری محل بریده می‌شد و در ظرف حاوی فرمالین ۱۰ درصد قرار می‌گرفت تا برای تهیه مقاطع بافتی دکلسیفیه به آزمایشات بافت‌شناسی منتقل گردد.

یافته‌های پژوهش با استفاده از نرم‌افزار آماری SPSS 10 و توسط آزمون دقیق فیشر<sup>۱</sup> و آنالیز نسبت شانس<sup>۲</sup> مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفتند.

1. Fisher exact test.

2. Odds ratio analysis.

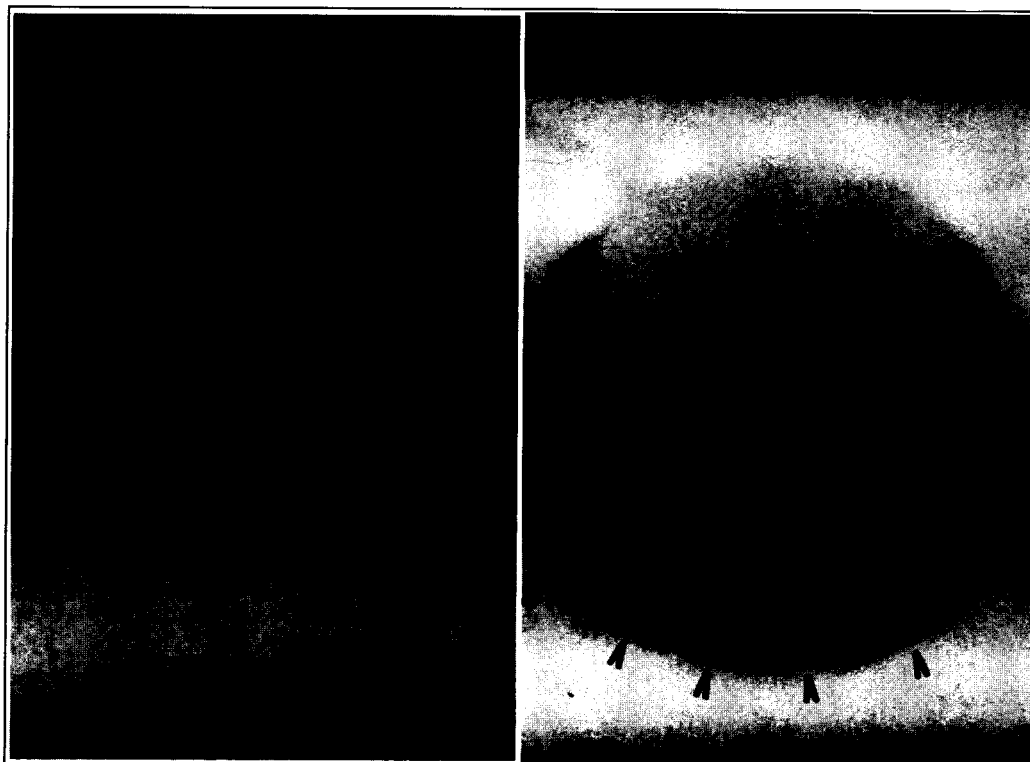
جدول ۱. میزان موفقیت انواع گرافت‌ها با توجه به منشأ جنینی و نوع استخوان آن‌ها

منشأ جنینی استخوان	نوع استخوان	تعداد پیوند	میزان موفقیت بر حسب تعداد موارد
داخل غشایی	CTCI	۱۰	۸۰ درصد
داخل غضروفی	CTCE	۱۰	۶۰ درصد

جدول ۲. مقایسه روند ترمیم و اتحاد بین پیوندهای داخل غشایی از نوع CTCI با پیوندهای داخل غضروفی از نوع CTCE با توجه به تحولات

میکروسکوپی روند ترمیم و اتحاد

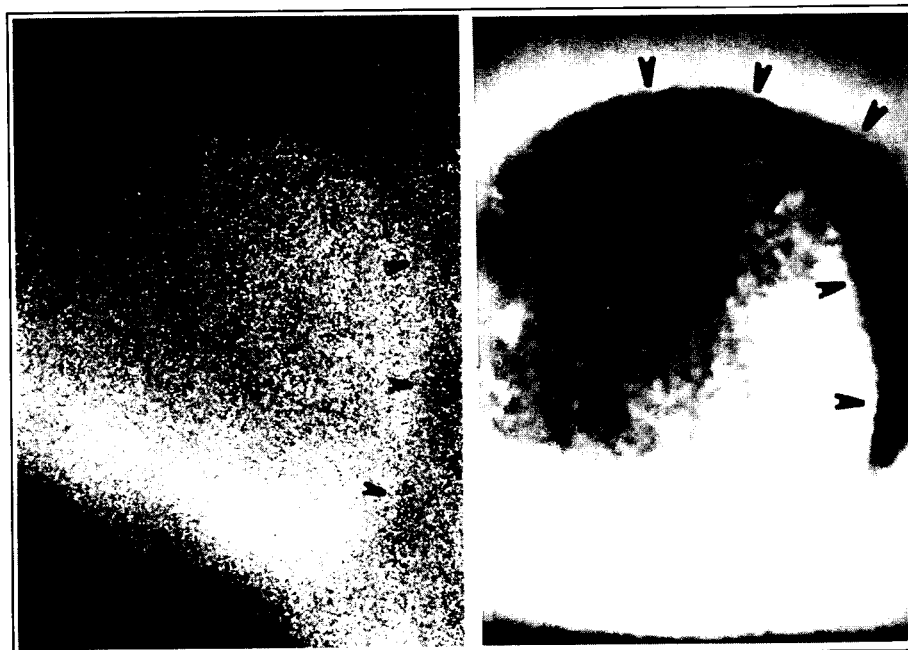
منشأ جنینی استخوان	نوع استخوان	ظهور سلول‌های التهابی	محدوده زمانی پایداری ارتشاسخ لنفوئوسیتی پلاسماسیتی	زمان آغاز تهاجم حروقی خوئی از طرف میزبان	ظهور فعالیت استخوان سازی داخل غضروفی و یا داخل غشایی	زمان آغاز وقوع اتحاد بین قطعه پیوندی و بستر میزبان به صورت جوشگاه استخوانی
داخل غشایی	CTCI	آخر هفته اول	طی هفته ۲ تا ۴	هفته ۴	هفته ۶ تا ۸	هفته ۱۰
داخل غضروفی	CTCE	آخر هفته اول	طی هفته ۲ تا ۴	هفته ۶	هفته ۸ تا ۱۲	هفته ۱۲



تصویرالف: بزرگنمایی ۴۰

تصویر ب: بزرگنمایی ۴۰

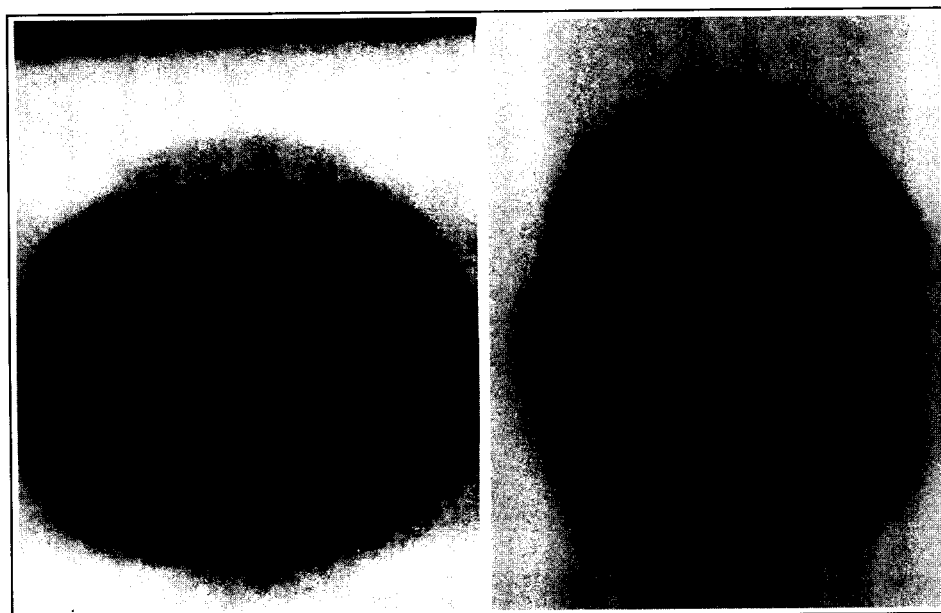
تصویر ۲- اتوگرافت تیبا قطعه مدور اتوگرافت از منشأ استخوان تیبا که بدون هرگونه عملیات آنتی ژن زدایی از تیبای پای راست به تیبای پای چپ پیوند شده است. تصویر الف) یک هفته پس از انجام عمل پیوند. پیکان‌ها مبین فضای تیره و خالی از بافت استخوانی بین قطعه پیوندی و استخوان محل پیوند می‌باشند. تصویر ب) دو ماه پس از انجام عمل پیوند. پیکان‌ها اشاره به همان فضای تیره تصویر الف دارند که اکنون توسط بافت جوشگاهی استخوان پر شده است.



تصویر ب: بزرگنمایی ۴۰

تصویر الف: بزرگنمایی ۴۰

تصویر ۳- تصویر رادیولوژی از پیوند اتوگرافت در استخوان تیبیا. قطعه پیوند شده، قطعه‌های مدور از استخوان تیبیا به قطر ۴ میلی متر است که پس از آنتی ژن زدایی مجدداً به سر جای خود پیوند شده است. تصویر الف) یک هفته پس از انجام عمل پیوند. پیکان‌ها مبین فضای تیره و خالی از بافت استخوانی بین قطعه پیوندی و استخوان محل پیوند می‌باشند. تصویر ب) دو ماه پس از انجام عمل پیوند. ناحیه تیره محیطی در اطراف قطعه پیوندی بسیار کاهش یافته است (پیکان‌ها) که نشان دهنده تشکیل بافت جوشگاهی و آغاز اتحاد می‌باشد.

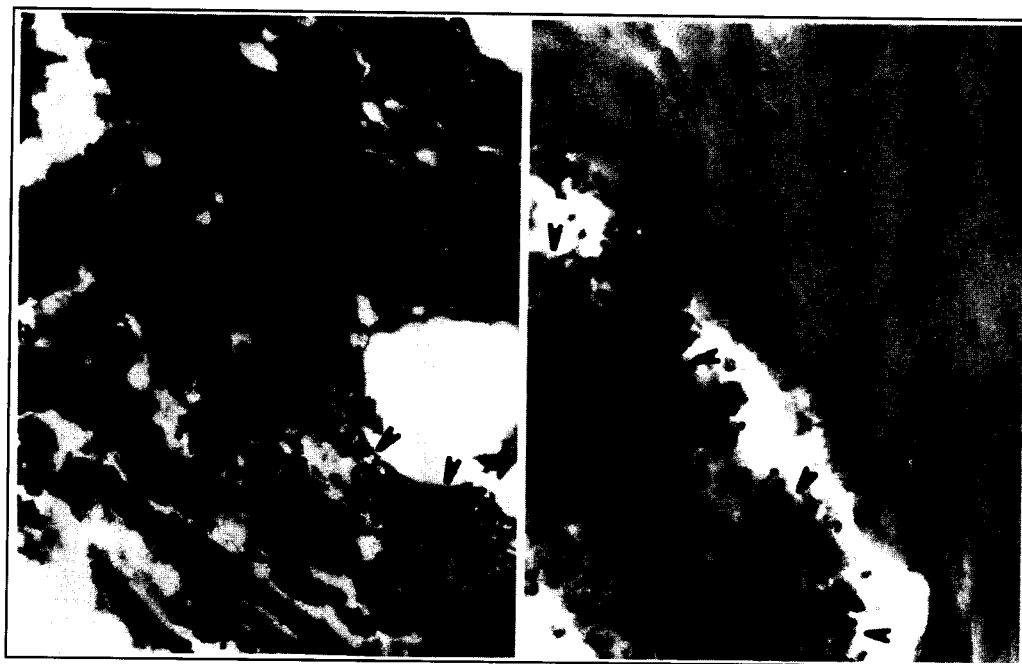


تصویر ب: بزرگنمایی ۴۰

تصویر الف: بزرگنمایی ۴۰

تصویر ۴- تصویر رادیولوژی از محل سوراخ تعبیه شده در استخوان تیبیا خرگوش به قطر ۴ میلی متر.

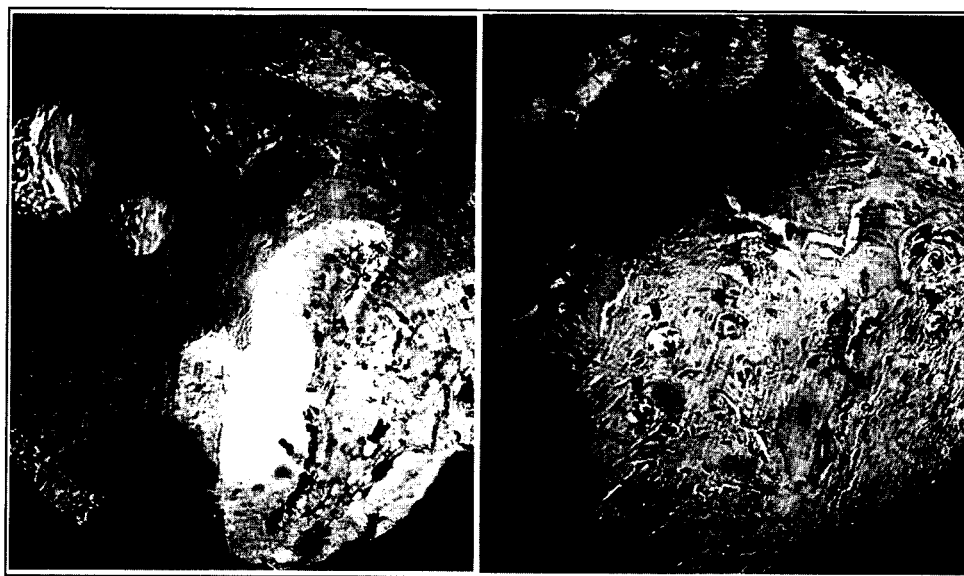
تصویر الف) یک هفته پس از ایجاد سوراخ. تصویر ب) سه ماه پس از ایجاد سوراخ.



تصویر الف: بزرگنمایی ۲۰۰

تصویر ب: بزرگنمایی ۴۰۰

تصویر ۵- نمای میکروسکوپی نوری از وقوع التهاب و واکنش سیستم دفاعی میزبان علیه قطعه پیوندی از نوع کورتیکوکانسلوس طی هفته چهارم پس از پیوند. تصویر الف) پاکسازی بقایای سلولی باقی مانده در حفرات استخوان اسفنجی توسط ماکروفاژها و سایر سلول های التهابی (پیکان‌ها) که پس از عملیات آنتی ژن زدایی بر جای مانده‌اند. تصویر ب) حضور ماکروفاژها، نوتروفیل‌ها و سایر سلول های التهابی (پیکان های بزرگ) طی پاکسازی حفرات استخوان اسفنجی از بقایای مغز قرمز استخوان و اندوستئوم در مجاورت لبه تیغه استخوانی (پیکان‌های کوچک).



تصویر الف: بزرگنمایی ۲۰۰

تصویر ب: بزرگنمایی ۲۰۰

تصویر ۶- مقایسه تهاجم عروقی در محل پیوندهای آلوگرافت CTCE و CTCI. تصویر الف) موضع پیوند آلوگرافت داخل غشایی طی هفته ششم، تیغه استخوانی تازه تشکیل شده (B) تهاجم عروق خونی فراوان در بستر بافت همبندی (پیکان‌ها) در ناحیه بافت جوشگاهی مشخص است. تصویر ب) موضع پیوند آلوگرافت داخل غضروفی طی هفته ششم در بستر بافت همبندی بافت جوشگاهی، عروق خونی بسیار نادرند (پیکان).



## بحث

یافته‌های این پژوهش نشان داد که علی‌رغم آن که تعداد موارد موفقیت پیوند و سرعت روند ترمیم در گرافت‌های CTCI بیشتر و سریع‌تر از موارد CTCE بوده است، اما این تفاوت‌ها از نظر آماری معنی‌دار نمی‌باشند. بنابراین اولویتی در به‌کارگیری این قبیل قطعات استخوان برای پیوند حداقل از نظر افزایش ضریب موفقیت پیوند وجود ندارد. از آن‌جا که از بین ۲۰ قطعه پیوندی کاشته شده در این طرح ۱۴ مورد با موفقیت کامل همراه بوده است، میزان موفقیت روش آنتی ژن زدایی دوگانه در این طرح و همچنین عملیات نگهداری قطعات پیوندی حدود ۷۰ درصد می‌باشد. در گزارشات فراوانی که توسط متخصصین گوناگون به ثبت رسیده است، میزان موفقیت آلوگرافت‌های FD بین ۶۵ تا ۹۵ درصد متغیر بوده است (۲۹،۳۰). استفاده از این روش آنتی ژن زدایی (که از نظر سهولت و در دسترس بودن امکانات ممکن و عملی به نظر می‌رسد) می‌تواند در موارد پیوندهای آلوگرافت در کلینیک نیز مورد توجه قرار گیرد.

بررسی نتایج میکروسکوپی حاکی از آن بود که ظهور فعالیت استخوان‌سازی در گرافت‌های CTCI به‌کاررفته در این تحقیق در بهترین حالت از هفته ششم و در گرافت‌های CTCE از هفته هشتم آغاز شده که احتمالاً به دلیل پایداری التهاب و حضور سلول‌های التهابی در موضع پیوند بوده است. این مسأله می‌تواند دلایل مختلفی داشته باشد و از چند جنبه مختلف قابل بحث و بررسی است. اصولاً هر قطعه پیوندی که در پیوند استخوان سیستم ایمنی میزبان را بیشتر تحریک کند، قابلیت OSI را نیز بیشتر کاهش می‌دهد (۱۰)؛ لذا پایداری التهاب و سلول‌های التهابی تا پایان هفته چهارم می‌تواند بیان‌کننده کمتر بودن قابلیت OSI این نوع قطعات باشد.

اکنون این سؤال مطرح می‌شود که چرا قطعات CTC می‌باید تا این حد محرک ایجاد و پایداری التهاب باشند؟ در پاسخ به این سؤال باید توجه داشت که اصولاً از دیدگاه بافت‌شناسی، استخوان اسفنجی دارای حفرات فراوانی است که وجود این حفرات موجب می‌گردند تا سطوح استخوانی در استخوان اسفنجی فوق‌العاده افزایش یابد. این بدین مفهوم است که در یک حجم معین از استخوان، در مقایسه استخوان متراکم با اسفنجی، سطوح

تماس استخوان اسفنجی با محیط اطراف خود چندین برابر می‌باشد. این ساختار ویژه بازتاب‌های گوناگونی دارد. وجود حفرات فراوان در استخوان اسفنجی به معنای آن است که در استخوان اسفنجی فضاهای فراوانی وجود دارد که این فضاها معمولاً توسط مغز قرمز استخوان (بافت خون ساز) اشغال شده است. از طرف دیگر وجود سطوح استخوانی فراوانی مبین این مطلب می‌باشد که مقادیر قابل توجهی بافت آندوست این سطوح را پوشانده است.

در مجموع می‌توان گفت اگر چنانچه پیوند اتوگرافت مورد نظر باشد، استخوان اسفنجی می‌تواند انتخاب بهتری باشد؛ زیرا با داشتن سطوح فراوان پوشیده از آندوست قدرت OSG فراوانی ایجاد می‌کند که سبب تسهیل و تسریع اتحاد می‌گردد (۳۱-۳۳). اما زمانی که از این استخوان در پیوند آلوگرافت استفاده می‌کنیم مسأله اندکی متفاوت است؛ یعنی اولین کاری که در آلوگرافت‌ها باید انجام داد از بین بردن خاصیت آنتی ژنیک این سلول‌ها می‌باشد (سلول‌های خون ساز، عروق خونی و سلول‌های آندوست). بدیهی است پس از اعمال روش‌های آنتی ژن زدایی دوگانه مبتنی بر روش دمیترالیزاسیون و FD، این سلول‌ها خاصیت آنتی ژنی خود را از دست می‌دهند ولیکن از آن‌جا که اجساد این سلول‌ها همچنان در فضاهای استخوان CTC باقی مانده است، این بقایا موجب تجمع و بقای طولانی مدت سلول‌های التهابی و کاهش قابلیت OSC می‌گردند (۳۴،۳۵). بنابراین به نظر می‌رسد تأخیر در آغاز فعالیت استخوان‌سازی داخل غضروفی یا داخل غشایی برای پیوندهای CTCI و CTCE در این تحقیق به دلیل مسائل مطرح شده فوق است.

وقوع واکنش التهابی و موضع‌گیری سیستم دفاعی میزبان علیه بقایای سلولی به جای مانده از عمل آنتی ژن زدایی دوگانه در تصویر ۵ قابل مشاهده می‌باشد. از طرف دیگر همان‌طور که از جدول ۲ قابل استنباط است، زمان آغاز تهاجم عروقی از طرف بافت میزبان به سوی قطعه پیوندی در مورد پیوندهای CTCI از هفته چهارم مشهود است. همین پدیده در پیوندهای CTCE از هفته ششم آغاز می‌گردد.

تصویر ۶ نشان می‌دهد که علی‌رغم آن که وقوع واکنش التهابی و بقای آن در هر دو نوع پیوند به‌طور یکسان بر قابلیت

3. Boycel T, Edwards J, Scarborough N. Autograft / allograft. *Orthop Clin North Am* 1999; 30(4): 571-82.
4. Lane JM, Sandhu HS. Current approaches to experimental bone grafting. *Orthop Clin North Am* 1998; 18: 213-16.
5. Boyne PJ. Review of the literature on cryopreservation of bone. *Cryobiology* 1968; 4: 341- 57.
6. Burwell RG, Gowland G, Dexter F. Studies in the transplantation of bone: further observation concerning the antigenicity of homologous cortical and cancellous bone. *J Bone Surg Br* 1963; 45: 597-608.
7. Bonfiglio M, Jeter WS. Immunological responses to bone. *Clin Orthop* 1972; 87:19-22.
8. Bos GD, Goldberg VM, Zica JM. Immune responses of rats to frozen bone allografts. *J Bone Joint Surg* 1983; 65 A: 239.
9. Elves MW. Newer knowledge of the immunology of bone and cartilage. *Clin Orthop* 1976; 120: 232.
10. Sun L, Hu Y, Ning Z, et al. The correlation between immune rejection and osteoinduction of allogeneic bone grafting. *Chin Med J* 1998; 111(9): 818-22 .
11. Pelker RR, Friedlander GE, Markham TC. Effects of freezing and freeze drying on the biomechanical properties of rat bone. *J Orthop Res* 1984; 1: 405-11.
12. Schwartz Z, Somers A, Mellonin JT. Ability of commercial demineralized freeze - dried bone allograft to induce new bone formation. *J Periodontal* 1998; 69:470-78.
13. Martin GJ, Boden SD, Titus L. New formulations of demineralized bone matrix as a more effective graft alternative in experimental posterolateral lumbar spine arthrodesis. *Spine* 1999; 24: 637-45.
14. Wilson PD. Follow-up study of the use of refrigerated homologous bone transplants in orthopedic operations. *J Bone Joint Surg Am* 1951;33: 307-10.

OSI اثر گذاشته است ، اما به نظر می‌رسد که شروع سریع تر تهاجم عروق خونی و ظهور فعالیت استخوان سازی در مورد قطعات CTCI بیان کننده وجود نیروهای مثبت دیگری در این نوع قطعات است که احتمالاً مربوط به قابلیت OSC برای قطعات پیوندی از نوع CTCI می‌باشد. این پشتیبانی و هدایت فرایند تشکیل استخوان است که سبب تهاجم سه بعدی عروق خونی و سلول‌های استخوان ساز از سمت بافت میزبان به سمت بافت پیوندی می‌شود (۴).

با توجه به این که در آلوگرافت هایی که مورد آنتی ژن زدایی دوگانه FD واقع شده‌اند سلول‌های پیوندی به طور کامل از بین می‌روند، نقش ماتریکس خارج سلولی بافت استخوان در پیوندهای CTCI در بالا بردن قابلیت OSC بیشتر نمایان می‌گردد. اگر چه از نظر آماری تفاوت محسوسی در موفق بودن پیوندهای CTCE و CTCI در دراز مدت وجود ندارد ولی در شرایطی که سرعت وقوع اتحاد از نظر بالینی دارای اهمیت است، استفاده از قطعات CTCI مناسب تر به نظر می‌رسد.

در مجموع باید اذعان داشت در صورتی که استحکام فراوان و مقاومت در مقابل نیروهای فشاری را از پیوند انتظار نداشته باشیم ، استفاده از قطعات CTCI مناسب تر به نظر می‌رسد. در عین حال باید توجه داشت که پس از انجام عمل پیوند استخوان چنانچه قطعه پیوندی آن قدر بزرگ باشد که در مقاومت استخوان گیرنده پیوند در مقابل نیروهای فشاری یا کششی تأثیر گذار باشد، ثابت نگه داشتن استخوان (خصوصاً در محل پیوند به کمک وسایل گوناگونی که در این قبیل موارد استفاده می‌شود) می‌تواند کمک بزرگی برای پیشبرد افزایش سرعت روند ترمیم و موفقیت آمیز بودن عملیات پیوند استخوان باشد .

## منابع

1. Tay B, Patel V, Bradford D. Calcium sulfate and calcium phoshate - based bone substitutes. *Orthop Clin North Am* 1999; 30(4): 615-22.
2. CDC: Update: allograft-associated bacterial infections United States 2002; 51(10): 207-12.

15. Hofmann A, Hofman C, Gotzen L. Effect of various bone disinfection and sterilization methods on osteoblast function: a comparative in vitro study. *Unfallchirurg* 2000; 103: 380-88.
16. Reddi AH, Weintrub S, Muthurumaran N. Biologic principles of bone induction. *Orthop Clin North Am* 1987; 18: 207.
17. Guo MZ, Xia ZS, Lin LB. The mechanical and biological properties of demineralized cortical bone allografts in animals. *J Bone Joint Surg* 1991; 73: 791-94.
18. Dario LG. Chin bone harvesting for autogenous grafting in the maxillary sinus: a clinical report. *Pract Periodontics Asthet Dent* 1994; 6(9): 87-91.
19. Schwarz N, Dinges HP, Schiesser T. Dog bone less osteogenic than rat bone: bone atriix transplants in nude rats. *Orthop Scand* 1989; 60: 693-95.
20. Schwars N, Schlag G, Thurnher M. Decalcified and undecalcified cancellous bone block implants do not heal diaphyseal defects in dogs. *Arch Orthop Trauma Surg* 1991; 111: 47-50.
21. Zhang MO, Powers RM, Wolfin barger L. Effect of the demineralization process on the of demineralized bone matrix. *Periodontal* 1997; 68: 1085-92.
22. Brchers RE, Gibson LJ, Burchardt H, et al. Effects of selected thermal variables on the mechanical properties of trabecular bone. *Bimaterial* 1995; 16: 541-51.
23. Kany J, Kim NH. The biomechanical properties of deep freezing and freeze drying bones and their biomechanical changes after in-vivo allograft. *Med J* 1995; 38: 332-35.
24. Voggenreiter G, Scheri R, Blvmer G. Effects of preservation and sterilization on cortical bone grafts: scanning electron microscopic study. *Arch Orthop Trauma Surg* 1994; 114: 294-301.
25. Zellin G, Linde A. Treatment of segmental defects inlong bones protein: an experimental study in rabbits. *Scand J Plast Reconstr Surg Hand Surg* 1997; 31: 97-109.
26. Oikarinen J. Experimental spinal fusion with decalcified bone matrix and deep-frozen allogeneic bone in rabbits. *Clin Orthop* 1982; 162: 210-18.
27. Tho KS. Use of coral grafts in anterior interbody fusion of the rabbit spine. *Ann Acad Med Singapour* 1996; 25: 824.
28. Yano H, Ohashi H, Tnande Y. Histologic and mechanical evaluation of impacted morce llized cancellous allografts in rabbits: comparison with hydroxy a patite granvles. *J Arthroplas* 2000; 15(5): 635-43.
29. Zdeblick TA, Ducker TB. The use of freeze dried allograft bone for anterior cervical fusion. *Spine* 1991; 16: 726-30.
30. Mannkin HY, Doppelt SH, Sullivan TR. Osteoarticular and Inte calary allograft transplantation in the management of malignant tumors of bone. *Cancer* 1982; 50: 613-30.
31. Bonfigloi M. Repair of bone-transplant fractures. *J Bone Joint Surg* 1958; 40 A: 446-50.
32. Basset C. Clinical implications of cell function in bone grafting. *Clin Orthop* 1972; 87: 49-56.
33. Elves MW. Early osteogenesis in compact bone isografts: a quantitative study of the contributions of the different graft cells. *Calcif Tissue Int* 1979; 29: 225-28.
34. Stevenson S, Li XQ, Martin B. The fate of concellous and cortical bone after transplantation of fresh and frozen tissue-antigen matched and mismatched osteochondral allograft in dogs. *J Bone Joint Surg* 1991; 73, 1143-56.
35. Stevenson S, Schaffer JW, Goldberg MW. The humoral respons to vascular allografts of bone. *Clin Orthop* 1996; 323: 89-95.