Journal of Arak University of Medical Sciences

Accepted Manuscript (Uncorrected Proof)

Title: Effect of Gentamycin Solution 80mg in Combination with Allograft Bone Material in Rat Bone Defect Regeneration

Authors: Maryam Jafarpour[1], Mojtaba Bayani[2,*], Leila Hesami-Moghadam[3], Ali Pooladi[4]

1. *Department of Periodontics, School of Dentistry, Arak University of Medical Sciences, Arak, Iran.*
2. *Assistant Professor of Periodontology, Department of Periodontics, School of Dentistry, Arak University of Medical Sciences, Arak, Iran.*
3. *Assistant Professor of Oral & Maxillofacial Radiology, Department of Oral Radiology, School of Dentistry, Arak University of Medical Sciences, Arak, Iran.*
4. *Assistant Professor of Endodontics, Department of Endodontics, School of Dentistry, Arak University of Medical Sciences, Arak, Iran.*

***Corresponding Authors:** Mojtaba Bayani, Assistant Professor of Periodontology, Department of Periodontics, School of Dentistry, Arak University of Medical Sciences, Arak, Iran. Email: mbayani@mail.com

To appear in: **Journal of Arak University of Medical Sciences**

Received date: 2021/06/8

Accepted date: 2022/05/14

First Online Published: 2022/08/31

نسخه پذیرفته شده پیش از انتشار

This is a “Just Accepted” manuscript, which has been examined by the peer-review process and has been accepted for publication. A “Just Accepted” manuscript is published online shortly after its acceptance, which is prior to technical editing and formatting and author proofing. **Journal of Arak University of Medical Sciences** provides “Just Accepted” as an optional service which allows authors to make their results available to the research community as soon as possible after acceptance. After a manuscript has been technically edited and formatted, it will be removed from the “Just Accepted” Website and published as a published article. Please note that technical editing may introduce minor changes to the manuscript text and/or graphics which may affect the content, and all legal disclaimers that apply to the journal pertain.

Please cite this article as:

Jafarpour M, Bayani M, Hesami-Moghadam L, Pooladi A. [Effect of Gentamycin Solution 80mg in Combination with Allograft Bone Material in Rat Bone Defect Regeneration (Persian)]. Journal of Arak University of Medical Sciences. Forthcoming 2022. Doi: http://dx.doi.org/10.32598/jams.25.1.5710.5

Doi: http://dx.doi.org/10.32598/jams.25.1.5710.5

نسخه پذیرفته شده پیش از انتشار

Journal of Arak University of Medical Sciences

نسخه پذیرفته‌شده پیش از انتشار

عنوان: بررسی اثر محلول جنتامایسین ۸۰ میلی گرم در ترکیب با آلوگرافت بر بازسازی دیفکت های استخوانی رت

عنوان کوتاه: اثر آلوگرافت بر بازسازی استخوان

نویسندگان: مریم جعفرپور[۱]، مجتبی بیانی[۲،*]، لیلا حسامی مقدم[۲]، علی پولادی[۲]

۱. *دندانپزشک عمومی دانشگاه علوم پزشکی اراک، اراک، ایران.*

۲. *استادیار دانشگاه علوم پزشکی اراک، اراک، ایران.*

***نویسنده مسئول:** مجتبی بیانی، استادیار دانشگاه علوم پزشکی اراک، اراک، ایران. ایمیل: mbayani@mail.com

نشریه: ***مجله دانشگاه علوم پزشکی اراک***

تاریخ دریافت: ۱۴۰۰/۰۳/۱۸

تاریخ پذیرش: ۱۴۰۱/۰۲/۲۴

نسخه پذیرفته شده پیش از انتشار

این نسخه «پذیرفته‌شده پیش از انتشار» مقاله است که پس از طی فرایند داوری، برای چاپ، قابل پذیرش تشخیص داده شده است. این نسخه در مدت کوتاهی پس از اعلام پذیرش به صورت آنلاین و قبل از فرایند ویراستاری منتشر می‌شود. *مجله دانشگاه علوم پزشکی اراک* گزینه «پذیرفته‌شده پیش از انتشار» را به عنوان خدمتی به نویسندگان ارائه می‌دهد تا نتایج آن‌ها در سریع‌ترین زمان ممکن پس از پذیرش برای جامعه علمی در دسترس باشد. پس از آنکه مقاله‌ای فرایند آماده سازی و انتشار نهایی را طی می‌کند، از نسخه «پذیرفته‌شده پیش از انتشار» خارج و در یک شماره مشخص در وبسایت نشریه منتشر می‌شود. شایان ذکر است صفحه آرایی و ویراستاری فنی باعث ایجاد تغییرات صوری در متن مقاله می‌شود که ممکن است بر محتوای آن تأثیر بگذارد و این امر از حیطه مسئولیت دفتر نشریه خارج است.

لطفا اینگونه استناد شود:

Jafarpour M, Bayani M, Hesami-Moghadam L, Pooladi A. [Effect of Gentamycin Solution 80mg in Combination with Allograft Bone Material in Rat Bone Defect Regeneration (Persian)]. Journal of Arak University of Medical Sciences. Forthcoming 2022. Doi: http://dx.doi.org/10.32598/jams.25.1.5710.5

Doi: http://dx.doi.org/10.32598/jams.25.1.5710.5

نسخه پذیرفته شده پیش از انتشار

ABSTRACT

Background and Aim: The Today, the use of grafts in the reconstruction of jaw bone defects has a unique place. One of the most commonly used grafts is allogeneic bone grafts. The use of Demineralized Freeze - Dried Bone Allograft (DFDBA) alone or in combination with other bone materials has shown significant improvements in bone aggregation processes and as a material that promotes ossification due to its osteoinduction effect. Stimulates, known. Therefore, the aim of this study was to evaluate the effect of gentamicin 80 mg topical solution with allograft on guided bone regeneration in defects in rat skull.

Methods and Materials: Twelve wistar mice were randomly divided into two groups with 6 mice in each group. Three defects were created in their skulls, one of which was filled with DFDBA allograft alone, the other with allograft with gentamicin 80 mg solution, and the third defect was left empty as a control group. After 4 and 10 weeks, the mice were sacrificed for histological specimens. Histological and histomorphometric evaluations were performed to qualitatively and quantitatively measure bone formation, new bone type made, new bone vitality, inflammatory response, connective tissue type and angiogenesis.

Findings: At the end of 4 and 10 weeks after surgery, the average percentage of ossification in the area of defects was higher in the group that received allografts with gentamicin, and during this period, a significant difference between these the group and the control group.

Conclusion: According to the present study, the use of gentamicin in combination with DFDBA has a significant effect on bone regeneration in defects in the rat skull.

Keywords: Allograft, Gentamicin, Guided bone regeneration, Histology, Histomorphometry

نسخه پذیرفته شده پیش از انتشار

چکیده

مقدمه: استفاده از آلوگرافت به تنهایی و یا همراه با مواد استخوانی دیگر، پیشرفت‌های قابل ملاحظه‌ای را در پروسه‌های آگمنتاسیون استخوان نشان داده است. بر این اساس هدف از این پژوهش ارزیابی اثر محلول جنتامایسین ۸۰ میلی‌گرم موضعی همراه با آلوگرفت در بازسازی هدایت شده‌ی استخوان در دیفکت‌های موجود در جمجمه‌ی رت می‌باشد.

مواد و روش‌ها: دوازده سر موش wistar به صورت تصادفی به دو گروه تقسیم‌بندی شدند که در هر گروه ۶ سر موش وجود داشت. سه عدد دیفکت در جمجمه‌ی آن‌ها ایجاد شده که یکی از آن‌ها به تنهایی با آلوگرفت Demineralized Freeze- Dried Bone Allograft (DFDBA) پر شد و دیگری با آلوگرفت همراه با محلول جنتامایسین ۸۰ میلی‌گرم و دیفکت سوم هم به عنوان گروه کنترل خالی گذاشته شد. بعد از ۴ و ۱۰ هفته موش‌ها برای تهیه‌ی نمونه‌های هیستولوژیک کشته شدند. ارزیابی‌های هیستولوژیک و هیستومورفومتریک برای اندازه‌گیری کیفی وکمی تشکیل استخوان، نوع استخوان جدید ساخته شده، وایتالیتی استخوان جدید، واکنش التهابی، نوع بافت همبندی و آنژیوژنز انجام شد.

یافته‌ها: در پایان هفته های ۴ و ۱۰ پس از جراحی درصد متوسط استخوان سازی در ناحیه‌ی دیفکت‌های ایجاد شده، در گروهی که آلوگرفت همراه با جنتامایسین بود بالاتر نشان داده شد و در این مدت تفاوت قابل ملاحظه‌ای بین این گروه و گروه کنترل بود.

نتیجه‌گیری: طبق مطالعه‌ی حاضر استفاده از جنتامایسین همراه با DFDBA اثر قابل ملاحظه‌ای روی بازسازی استخوان در دیفکت های ایجاد شده در جمجه رت دارد.

کلمات کلیدی: آلوگرفت، بازسازی هدایت شده استخوان، جنتامایسین، هیستولوژی، هیستومورفومتری

نسخه پذیرفته شده پیش از انتشار

مقدمه

امروزه استفاده از مواد پیوندی در بازسازی نواقص استخوانی فکین از جایگاه منحصر به فردی برخوردار است. مواد جایگزین استخوان که از مواد سازگار با نسج زنده ساخته شده‌اند، ویژگی‌های بیومکانیکی مطلوبی دارند و می‌توانند فعالیت تشکیل استخوان را بازسازی کنند (۱). در بین پیوندها، Demineralized Freeze-Dried Bone Allograft (DFDBA) که عضوی از دسته آلوگرافت‌هاست، پرکاربردترین ماده مورد استفاده است که به خاطر ایمن بودن، سهولت کاربرد، ویژگی‌های القاء ساخت استخوان و استخوان سازی است (۲, ۳).

توانایی بازسازی در درمان DFDBA به خاصیت Osteoinductivity نمونه‌ی پیوندی بستگی دارد که خود وابسته به سن Donor ، پاتولوژی قبلی، درمان دارویی و تفاوت‌های ژنتیکی و غیره است (۴). ترکیب آنتی‌بیوتیک‌ها با مواد پیوند استخوان می‌توانند به صورت بالقوه برای جلوگیری از عفونت موضعی در محل جراحی پیوند استخوان استفاده شود. مواد ضدمیکروبی مختلف برای کنترل عفونت و تسهیل بهبودی حین و پس از درمان پریودنتال، همراه با گرفت‌های استخوانی استفاده می‌شوند. نظریه استفاده از آنتی‌بیوتیک موضعی اولین بار توسط Goodson, et al (۵, ۶). درسال ۱۹۸۵ برای درمان بیماری پریودنتال ارائه شد. تا به حال مطالعات متعددی در خصوص استفاده موضعی انواع آنتی‌بیوتیک‌ها از جمله انواع تتراسایکلین‌ها، داکسی سایکلین، بیس فسفونات‌ها و جنتامایسین صورت گرفته است و نتایج مختلفی به دست آمده است.

آنتی‌بیوتیک جنتامایسین یک آمینوگلیکوزید همراه با اثرات ضدمیکروبی است که به طور اولیه روی باسیل‌های گرم منفی هوازی اثر می‌گذارد ولی یک اثر انتخابی روی Staphylococcus Aureus و Staphylococcus Epidermidis نیز دارد و استفاده موضعی از جنتامایسین به عنوان پروفیلاکسی عفونت استخوان به عنوان یک روش درمانی پذیرفته شده است. از اثرات دیگر جنتامایسین علاوه بر خاصیت ضدمیکروبی آن می‌توان به خاصیت آن در تسریع روند واسکولاریزاسیون در گرفت‌های استخوانی اشاره نمود (۷). طی یک مطالعه انجام شده اثر احتمالی اضافه کردن جنتامایسین به گرفت‌ها، یا به علت خاصیت آنژیوژنزیس آن است یا به علت اثر آنتی میکروبیال مستقیم علیه استافیلوکوک‌هایی است که توانسته‌اند ممبران را طی قرار دهی آن آلوده کنند (۷). لذا در مطالعه حاضر نقش آنتی‌بیوتیک جنتاماسین در ترکیب با مادهٔ پیوند استخوان DFDBA در ترمیم نواقص استخوانی ایجاد شده در استخوان جمجمه رت مورد بررسی قرار گرفت.

روش

بعد از اخذ کد اخلاق به شماره ARAKMU.IR.REC.1397.30 از کمیته اخلاق مطالعه‌ی حاضر شروع به انجام شد. پژوهش حاضر از نوع مطالعات تجربی و به صورت Animal study می‌باشد که بر روی ۱۲ سر موش Wistar سفید رنگ با وزن تقریبی ۴۰۰ تا ۵۰۰ گرم که همگی نر بودند انجام گردید. حداقل حجم نمونه مورد استفاده برای هر دوره زمانی (با سطح اطمینان ۹۵٪ و توان آماری ۸۰٪) (برای ۴ هفته و ۱۰ هفته به صورت جداگانه) ۶ نمونه تعیین شد. این حیوانات قبل از پروسهٔ جراحی در محیط کلینیک دامپزشکی درون قفس و تحت رژیم غذایی یکسان و استاندارد با متوسط دمای ۲۲ تا ۲۴ درجه سانتی‌گراد با کنترل سیکل شبانه روزی نگه‌داری شدند.

با استفاده از دریل ترفاین ۳/۹ میلی‌متری که به موتور ایمپلنت متصل شده است و با سرعت ۱۱۰۰RPM و تورک ۳۰ نیوتون، برای تمام نمونه‌ها، تحت شرایط آسپتیک و شستشوی مداوم با سرم استریل، سه عدد دیفکت یک شکل، یک اندازه با قطر ۴/۹ میلی‌متر در کالواریوم هر رت ایجاد شد. به صورت تصادفی یکی از این دیفکت‌ها به عنوان شاهد خالی گذاشته شد (Untreated, Filled with blood clot) (دیفکت شماره ۱) و دیگری به تنهایی با آلوگرافت پر گردید (دیفکت شماره ۲) و دیفکت سوم از ترکیب آلوگرفت همراه با محلول جنتامایسین ۸۰ میلی‌گرم که به مدت ۱۰ دقیقه در آن غوطه‌ور شده است، پر گردید (دیفکت

نسخه پذیرفته شده پیش از انتشار

شماره ۳). که ترتیب آن ها نیز در تمامی نمونه‌ها یکسان بود به این صورت که حفره سمت چپ به عنوان شاهد انتخاب شد (شماره۱)، حفره‌ی سمت راست با ترکیب آلوگرفت و جنتامایسین (شماره۳) و حفره‌ی پایین با آلوگرفت به تنهایی پر شد (شماره۲). پس از اتمام جراحی، پریوست بصورت کاملا دست نخورده و بطور دقیق در محل اولیه و با پوشش حداکثری دیفکت‌ها قرار گرفت و با بخیه (Vicryl 4-0) بخیه شد. پوست محل کالواریوم با نخ بخیه (Silk 3-0) بخیه زده شد.

تعداد ۳۶ عدد دیفکت هم اندازه در کالواریوم ۱۲ سر موش ایجاد شد (تصویر ۱). نمونه‌ها به دو گروه زمانی ۴ هفته و ۱۰ هفته تقسیم شدند. ۱۲ حفره با آلوگرفت DFDBA، ۱۲ حفره با آلوگرفت DFDBA همراه با جنتامایسین پر شدند و ۱۲ حفره هم به عنوان گروه کنترل خالی گذاشته شدند. در طول مطالعه پس از جراحی، هیچ یک از حیوانات دچار کاهش وزن یا بروز علائم سیستمیک نشدند. نیمی از موش‌ها بعد از ۴ هفته و نیمی دیگر بعد از ۱۰ هفته Sacrifice شدند. طی هفته‌های ۴ و۱۰ تعدادی از حیوانات با اوردوز کلروفرم کشته شدند و محل جراحی با تیغ شماره ۱۰ به طور کامل Dissect، کالواریا جدا شد و نمونه‌ها به صورت جداگانه داخل فرمالین ۱۰ درصد قرارداده شدند. در کل تعداد ۳۶ حفره پس از رنگ آمیزی با H&E بر روی ۳۶ عدد لام بررسی شدند. هر دیفکت نیز به طور جداگانه برای بررسی آنژیوژنز تحت رنگ آمیزی IHC قرار گرفت و تعداد ۳۶ عدد لام نیز بدین منظور تهیه شد.

برای محاسبه استخوان ساخته شده از نرم‌افزار Iranian Histomorphometric Software استفاده شد؛ درصد مناطق اشغال شده توسط استخوان، تعیین و میانگین آن مشخص گرید. میزان عروق ساخته شده بر اساس تست ایمونوهیستوشیمی با استفاده از مارکرهای خاص رنگ آمیزی (VEGF1 و CD31) و رنگ آمیزی سلول‌های اندوتلیال عروق و دیدن Field ها به صورت تصادفی محاسبه شدند. تعداد عروق با Field ×100 در سه مکان تصادفی اندازه‌گیری و میانگین گرفته شد.

جهت تجزیه و تحلیل داده‌ها به تناسب از آزمون Fisher، آنالیز واریانس دو طرفه، آزمون t، آزمون ANOVA یا Kruskal-Wallis و با استفاده از نرم‌افزار آماری SPSS نسخه ۱۶ استفاده گردید.

داده‌ها و یافته‌ها

بررسی‌ها نشان داد التهاب برای تمامی دیفکت‌های موجود زیر۲۵ درصد (Grade 0) و مزمن بوده و از این لحاظ تفاوت خاصی باهم نداشتند. همچنین واکنش جسم خارجی که با حضور سلول های Giant و واکنش گرانولوماتوز مشخص می‌شود، در هیچ یک از دیفکت‌های مذبور مشاهده نگردید. تمامی استخوان‌های ساخته شده در دیفکت‌های موجود وایتال بوده و از این نظر نیز تفاوت چندانی باهم نداشتند. تنها در درصد کمی از لام‌ها، مناطق کوچکی از استخوان غیرزنده (Dead bone) مشاهده شد که به احتمال زیاد ناشی از عدم جذب کامل پودر استخوان مصرفی می‌باشد.

بر اساس آزمون Fisher exact متغیر نوع استخوان ساخته شده در زمان ۴ هفته معنی‌دار بوده (P<۰/۰۰۱) و در زمان ۱۰ هفته معنی‌دار نبوده است (P=۰/۳۴). در گروه ۴ هفته‌ای تمامی دیفکت‌های C وD از نوع استخوان Woven بوده است و تمامی دیفکت‌های DG از نوع استخوان Woven-Lamellar بوده است. در گروه ۱۰ هفته‌ای در دیفکت C، ۱ دیفکت از نوع Woven و ۱ دیفکت از نوع Woven-lamellar و ۴ عدد از نوع Lamellar بوده است. در دیفکت D، ۲ نمونه از نوع Woven-Lamellar و ۴ تا ازنوع Lamellar بوده است. استخوان ساخته شده در دیفکت DG نیز همگی از نوع Lamellar بوده است. در تمامی دیفکت‌هایی که دارای میزانی از پارتیکل‌های باقیمانده بودند، استخوان و بافت همبند با یکدیگر تماس مستقیم داشتند.

نتایج میانگین و انحراف معیار درصد استخوان ساخته شده در هر یک از گروه های مورد مطالعه در جدول ۱ ارائه گردیده است. همچنین با توجه به نتایج جدول ۲ بر اساس آنالیز واریانس در بررسی درون گروهی در زمان ۴ و ۱۰ هفته در بین تمامی نمونه‌ها تفاوت آماری معنی‌دار مشاهده گردید (P<۰/۰۰۱). در این مقایسه بر اساس آزمون تعقیبی توکی بین گروه C و ۲

نسخه پذیرفته شده پیش از انتشار

گروه دیگر و نیز گروه D با گروه DG اختلاف معنی‌دار مشاهده شد. میزان استخوان سازی به صورت معنی‌داری از بیشترین به کمترین شامل DG، D و C بود.

با توجه به نتایج جدول ۳ بر اساس آزمون فیشر متغیر نوع بافت همبندی در زمان ۴ هفته (P=۰/۲۲) و در زمان ۱۰ هفته معنی‌دار نبوده است (P=۰/۹۵). در هفته ۴ تنها ۲ نمونه از گروه DG از نوع نرمال و باقی نمونه‌ها فیبروز بوده‌اند. در هفته ۱۰ ، ۱ نمونه از گروه C، ۲ نمونه از گروه D و ۳ نمونه از گروه DG از نوع فیبروز و باقی نمونه نرمال (فیبرو واسکولار) بودند. بر اساس آزمون فیشر نوع استخوان ساخته شده در مقایسه بین ۴ و ۱۰ هفته در گروه C (P=۰/۰۰۷) و D (P=۰/۰۲) معنی‌دار می‌باشد ولی در گروه DG (P=۰/۶) معنی‌دار نبود.

با توجه به نتایج جدول ۴ بر اساس آزمون فیشر متغیر محل استخوان‌سازی در زمان ۴ هفته معنی‌دار بوده (P=۰/۰۰۸) در زمان ۱۰ هفته معنی‌دار نبوده است (P=۱/۰). در زمان ۴ هفته ۳ نمونه از گروه C تنها از حاشیه‌ها استخوان سازی داشتند و مابقی نمونه‌ها از مرکز و هم از حاشیه‌ها استخوان سازی را انجام دادند. در زمان ۱۰ هفته تنها ۱ نمونه از گروه C استخوان سازی از مرکز نداشت و مابقی نمونه‌ها هم از مرکز و هم از حاشیه‌ها استخوان‌سازی داشتند.

بر اساس نتایج جدول ۵ میانگین استخوان سازی در مرکز در زمان ۴ هفته گروه C، ۵/۸۷ با انحراف معیار ۷/۰۵ و در زمان ۱۰ هفته، ۲۲/۰۸ با انحراف معیار ۱۳/۲۰ بود. در زمان ۴ هفته در گروه D، ۱۴/۵۶ با انحراف معیار ۵/۲۹ و در ۱۰ هفته ۳۳/۹۳ با انحراف معیار ۸/۶۰ بود. در ۴ هفته در گروه DG، ۲۲/۶۴ با انحراف معیار ۹/۵۴ و در ۱۰ هفته، ۴۱/۶۰ با انحراف معیار ۱۱/۵۸ بود. بر اساس آزمون آنالیز واریانس دو طرفه اثر متقابل دو فاکتور D و G در ۴ هفته معنی‌دار نبود (P=۰/۲۷) ولی در ۱۰ هفته (P=۰/۰۳) معنی‌دار بود. میانگین استخوان‌سازی در حاشیه‌ها در زمان ۴ هفته گروه C، ۲۱/۶۷ با انحراف معیار ۱/۷۹ و در زمان ۱۰ هفته، ۳۱/۷۲ با انحراف معیار ۶/۲۳ بود. در زمان ۴ هفته در گروه D، ۳۳/۹۰ با انحراف معیار ۵/۴۲ و در ۱۰ هفته، ۵۱/۱۹ با انحراف معیار ۶/۱۱ بود. در ۴ هفته در گروه DG ، ۳۵/۵۰ با انحراف معیار ۵/۶۵ و در ۱۰ هفته ۶۱/۵۷ با انحراف معیار ۷/۶۵ بود.

بر اساس آنالیز واریانس در بررسی درون گروهی در زمان ۴ هفته (P=۰/۲۷) و ۱۰ هفته (P=۰/۶۶) در بین تمامی نمونه‌ها تفاوت آماری معنی‌دار مشاهده نشد. بر اساس آزمون آنالیز واریانس دو طرفه، اثر متقابل دو فاکتور D وG بر میزان آنژیوژنز در ۴ هفته (P=۰/۰۸) و در ۱۰ هفته (P=۰/۵۴) معنی‌دار نبود. بر اساس آزمون t در حضور D تفاوت بین بودن و نبودن G در ۴ هفته (P=۰/۰۰۶) و در ۱۰ هفته (P=۰/۰۲) معنی‌دار بوده است. بر اساس همین آزمون در عدم حضور G در ۴ هفته (P=۰/۲۶) و در ۱۰ هفته (P=۰/۴۳) تفاوت بین بودن و نبودن D معنی‌دار نبود. بر اساس آزمون t میانگین عروق ساخته شده توسط مارکر CD31 در مقایسه بین ۴ و ۱۰ هفته در گروه C (P=۰/۴۱)، در گروه D (P=۰/۲۷)، و در گروه DG (P=۰/۷۳) معنی‌دار نبود.

بر اساس آزمون آنالیز واریانس دو طرفه در ۴ هفته (P<۰/۰۰۱) و در ۱۰ هفته (P=۰/۰۱) تفاوت بین حضور G در دیفکت در مقایسه با عدم حضور آن معنی‌دار بوده است. ولی تفاوت بین حضور D در مقایسه با عدم حضور آن در ۴ هفته (P=۰/۳۹) و در ۱۰ هفته (P=۰/۰۸) معنی‌دار نبوده است. و از طرفی اثر متقابل D و G هم در ۴ هفته (P=۰/۱۴) و هم در ۱۰ هفته (P=۰/۵۷) معنی‌دار نبوده است. بر اساس آزمون t میانگین عروق ساخته شده توسط مارکر CD31 و VEGF1 در مقایسه بین ۴ و ۱۰ هفته در گروه C (P=۰/۲۷)، در گروه G (P=۰/۰۸) و در گروه DG (P=۰/۰۹) معنی‌دار نبود.

بحث

امروزه استراتژی ترمیم استخوان پیشرفت‌های زیادی کرده است، استفاده از فاکتورهایی که استخوان سازی را تحریک می‌کنند مانند Bone Morphogenic Protein 2 (BMP-2)، basic Fibroblast Growth Factor(b-FGF)، Platelet-

نسخه پذیرفته شده پیش از انتشار

Rich Plasma(PRP)، Transforming Growth Factor-Beta1 (TGF-β1) و Vascular Endothelial Growth Factor(VEGF) می‌توانند این فرآیند را بهبود ببخشد (۸). فاکتورهای بسیاری می‌توانند روی تقویت یا تضعیف استخوان سازی تاثیر بگذارند. این فاکتورها شامل: نوع بافت، محل، وضعیت زخم، خونرسانی، وضعیت میکروبی و فاکتورهای موضعی و سیستمیک است (۹). فاکتورهای سیستمیک مانند سایتوکاین‌ها، هورمون‌ها، ملکول‌های چسبنده و فاکتورهای رشدی می‌توانند پرولیفراسیون، تمایز و فعالیت سلول‌های استخوانی را تنظیم کنند (۱۰). تکنیک‌های بسیاری جهت تقویت ترمیم استخوان انجام شده است (۱۱). کشف ماده‌ی جایگزین استخوان که ترمیم استخوان را تقویت می‌بخشد، برای درمان تروماهای استخوانی و یا جراحی‌ها لازم است (۱۲).

در پژوهش حاضر گروه کنترل نقش یک Non-CSD را بازی نموده که با توجه به اینکه پریوست سالم مانده و روی دیفکت برگردانده شده، مشخصات دیفکت فرآیند GBR را تقلید می‌کند که الگوی استخوان سازی در علم پریودنتولوژی است. از آنجایی که در هفته‌های ۴ و ۱۰ گروه‌های مورد مطالعه D وDG هر دو به طور معنی‌داری استخوان سازی بیشتری را از گروه کنترل نشان می‌دهند می‌توان گفت که استفاده از ۳ دیفکت تقریبا ۵ میلی‌متری در کالواریای موش مول مناسبی را برای بررسی فاز اولیه ترمیم و مقایسه همزمان تاثیر مواد مختلف به جهت کاهش تنوعات فردی (Individual variation) در مطالعات Experimental است (۱۳).

نتایج نشان داد درصد استخوان ساخته شده در هر دو زمان ۴ و ۱۰ هفته به ترتیب از بیشترین به کمترین شامل C، D ، DG بود که در بین زمان ۴ و ۱۰ هفته معنی‌دار بوده است. با توجه به نتایج در گروه ۴ هفته‌ای تمامی دیفکت‌های C و D از نوع استخوان Woven بوده است و تمامی دیفکت‌های DG از نوع استخوان Woven-Lamellar بوده است. در گروه ۱۰ هفته‌ای در گروه C یک دیفکت از نوع Woven و یک دیفکت از نوع Woven-Lamellar و ۴ دیفکت باقی مانده از نوع Lamellar بوده است. در دیفکت D، دو نمونه از نوع Woven-Lamellar و ۴ تای دیگر از نوع Lamellar بوده است. و در دیفکت‌های DG همگی از نوع Lamellar بوده‌اند.

با توجه به نتایج هیچ گونه اختلاف معنی‌داری از لحاظ آماری در بین تمامی نمونه‌ها در زمان‌های ۴ و ۱۰ هفته دیده نشد. در واقع التهاب در تمامی نمونه‌ها زیر ۲۵ درصد بوده و تفاوتی بین آن‌ها وجود نداشت. تداخلات زیادی بین التهاب و آنژیوژنز وجود دارد. آنژیوژنز می تواند باعث افزایش التهاب از طریق فراهم کردن اکسیژن و مواد غذایی برای تجمع توده التهابی و تسهیل اینفیلتراسیون سلول‌های التهابی بشود. بنابراین هدف‌گیری آنژیوژنز به عنوان راه کار مناسب کاهش التهاب می‌تواند مفید واقع شود (۱۴).

نتایج پژوهش حاضر نشان داد در هیچ کدام از دیفکت‌های موجود واکنش جسم خارجی و سلول های Giant چندهسته‌ای وجود نداشت. متغیر وایتالیتی در هر دو زمان ۴ و ۱۰ هفته از لحاظ آماری اختلاف معنی‌داری نداشت و در تمامی نمونه‌ها استخوان جدید ساخته شده زنده بود و تنها در مناطق کوچکی از بعضی لام ها مناطق کوچکی از استخوان غیرزنده (Dead bone) مشاهده شد که از لحاظ آماری معنی‌دار نبود. بر اساس نتایج تماس مستقیم بین بیومتریال و استخوان جدید ساخته شده دلالت بر خاصیت مثبت استئوکانداکتیو بودن و همچنین Inert بودن DFDBA به عنوان داربستی مناسب جهت نفوذ سلول‌های استخوانی و هدایت سیگنال‌های استخوان سازی دارد (۱۵). در مطالعه Cordaro در سال ۲۰۰۸ نیز ارتباط بین استخوان جدید ساخته شده و پارتیکل‌های گرفت مستقیم و نزدیک بوده است (۱۶).

M.Fassbender در سال ۲۰۱۳ اثر جنتامایسین را روی استخوان تیبیای ۷۲ عدد موش که تحت استئوکتومی قرار گرفته بودند مورد مطالعه قرار داد و نشان دادند که جنتامایسین اثر منفی روی پروسه ی ترمیم استخوان ندارد (۱۷). نتایج مطالعه‌ی حاضر با این مطالعه همخوانی داشت. P.Behfarnia در سال ۲۰۱۲ از سه نوع ماده ی DFDBA متفاوت در دیفکت‌های

نسخه پذیرفته شده پیش از انتشار

جمجمه‌ی خرگوش‌های نیوزلندی اســـتفاده کرد و دیفکت‌های یک گروه را هم به عنوان شـــاهد خالی گذاشـــته بود. بین گروه کنترل و گروه‌های مورد آزمایش تفاوت قابل ملاحظه‌ای وجود نداشت که از این جهت با مطالعه‌ی حاضر مغایرت دارد (۱۸). در مطالعه‌ای دیگر که تو سط Stavropoulos در سال ۲۰۰۳ انجام شد، از کپ سول‌های تفلونی پک شده با ۰/۰۲۵ گرم ماده اســـتفاده کردند و در محل جراحی روی راموس مندیبل موش‌ها قرار دادند و این نتیجه را گرفتند که جنتامایســـین اثری روی ترمیم بهتر اســـتخوان ندارد (۷)، اما این نتایج با مطالعه‌ی حاضـــر مغایرت داشـــت. Aghaloo و همکاران در ســـال ۲۰۰۶ از ترکیبات Freeze-dried Mineralized Bone (FMB)، FMB به همراه PRP(Platelet-Rich Factor)، freeze-dried demineralized Bone (FDDB) و FDDB به همراه PRP دردیفکت‌های کالواریوم ۱۵ عدد خرگوش اســـتفاده کردند. این محققین افزودن PRP به ترکیبات آلوگرفت را جهت درمان Non- Critical –Sized defects موثر ندانســـتند (۱۹).

نتیجه‌گیری

در نهایت با توجه به شـــواهد ذکر شـــده می‌توان نتیجه‌گیری کرد که افزودن محلول ۸۰ میلی‌گرم جنتامایســـین به آلوگرفت DFDBA می‌تواند اثرات مطلوبی روی بازسازی استخوان و بهبود روند ترمیم استخوان داشته باشد.

حامی مالی

تعارض منافع

تقدیر و تشکر

نسخه پذیرفته شده پیش از انتشار

References

1. 1. Kaur K, Sikri P. Evaluation of the effect of allograft with doxycycline versus the allograft alone in the treatment of infrabony defects: A controlled clinical and radiographical study. Dental research journal. 2013;10(2):238-46. Available from: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/23946743/.

2. 2. Albrektsson T, Dahl E, Enbom L, Engevall S, Engquist B, Eriksson AR, et al. Osseointegrated oral implants. A Swedish multicenter study of 8139 consecutively inserted Nobelpharma implants. Journal of periodontology. 1988;59(5):287-96. Available from: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/3290429/.

3. 3. Hämmerle CH, Jung RE, Yaman D, Lang NP. Ridge augmentation by applying bioresorbable membranes and deproteinized bovine bone mineral: a report of twelve consecutive cases. Clinical oral implants research. 2008;19(1):19-25. Available from: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/17956571/.

4. 4. Jergesen HE, Chua J, Kao RT, Kaban LB. Age effects on bone induction by demineralized bone powder. Clinical orthopaedics and related research. 1991(268):253-9. Available from: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/2060217/.

5. 5. Goodson JM, Hogan PE, Dunham SL. Clinical responses following periodontal treatment by local drug delivery. Journal of periodontology. 1985;56(11 Suppl):81-7. Available from: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/3866055/.

6. 6. Goodson JM, Offenbacher S, Farr DH, Hogan PE. Periodontal disease treatment by local drug delivery. Journal of periodontology. 1985;56(5):265-72. Available from: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/3891959/.

7. 7. Stavropoulos A, Kostopoulos L, Mardas N, Nyengaard J, Karring T. Gentamicin used as an adjunct to GTR: An experimental study in rats. Journal of clinical periodontology. 2003;30(5):455-62. Available from: https://onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1034/j.1600-051X.2003.10259.x.

نسخه پذیرفته شده پیش از انتشار

8. 8. Minagawa T, Tabata Y, Oyama A, Furukawa H, Yamao T, Yamamoto Y. Controlled release of granulocyte colony-stimulating factor enhances osteoconductive and biodegradable properties of Beta-tricalcium phosphate in a rat calvarial defect model. International journal of biomaterials. 2014;2014:134521. Available from: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/24829581/.

9. 9. Devlin H, Sloan P. Early bone healing events in the human extraction socket. International journal of oral and maxillofacial surgery. 2002;31(6):641-5. Available from: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/12521322/.

10. 10. Manolagas SC. Birth and death of bone cells: basic regulatory mechanisms and implications for the pathogenesis and treatment of osteoporosis. Endocrine reviews. 2000;21(2):115-37. Available from: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/10782361/.

11. 11. Lopes CB, Pacheco MT, Silveira L, Jr., Duarte J, Cangussú MC, Pinheiro AL. The effect of the association of NIR laser therapy BMPs, and guided bone regeneration on tibial fractures treated with wire osteosynthesis: Raman spectroscopy study. Journal of photochemistry and photobiology B, Biology. 2007;89(2-3):125-30. Available from: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/17981047/.

12. 12. Beirne OR. Comparison of complications after bone removal from lateral and medial plates of the anterior ilium for mandibular augmentation. International journal of oral and maxillofacial surgery. 1986;15(3):269-72. Available from: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/3088154/.

13. 13. Sohn JY, Park JC, Um YJ, Jung UW, Kim CS, Cho KS, et al. Spontaneous healing capacity of rabbit cranial defects of various sizes. Journal of periodontal & implant science. 2010;40(4):180-7. Available from: https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2931306/.

14. 14. Maruotti N, Cantatore FP, Crivellato E, Vacca A, Ribatti D. Angiogenesis in rheumatoid arthritis. Histology and histopathology. 2006;21(5):557-66. Available from: https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4879881/#:~:text=Formation%20of%20n

نسخه پذیرفته شده پیش از انتشار

ew%20capillaries%20from%20the%20pre%2Dexisting%20vessels%20is,5%2C6%2C4%5D.

15. 15. Rasouli Ghahroudi AA, Rokn AR, Kalhori KA, Khorsand A, Pournabi A, Pinheiro AL, et al. Effect of low-level laser therapy irradiation and Bio-Oss graft material on the osteogenesis process in rabbit calvarium defects: a double blind experimental study. Lasers in medical science. 2014;29(3):925-32. Available from: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/23996072/.

16. 16. Cordaro L, Bosshardt DD, Palattella P, Rao W, Serino G, Chiapasco M. Maxillary sinus grafting with Bio-Oss or Straumann Bone Ceramic: histomorphometric results from a randomized controlled multicenter clinical trial. Clinical oral implants research. 2008;19(8):796-803. Available from: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/18705811/.

17. 17. Fassbender M, Minkwitz S, Kronbach Z, Strobel C, Kadow-Romacker A, Schmidmaier G, et al. Local gentamicin application does not interfere with bone healing in a rat model. Bone. 2013;55(2):298-304. Available from: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/23631877/.

18. 18. Behfarnia P, Shahabooei M, Mashhadiabbas F, Fakhari E. Comparison of bone regeneration using three demineralized freeze-dried bone allografts: A histological and histomorphometric study in rabbit calvaria. Dental research journal. 2012;9(5):554. Available from: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/23559919/.

19. 19. Aghaloo TL, Moy PK, Freymiller EG. Evaluation of platelet-rich plasma in combination with freeze-dried bone in the rabbit cranium. A pilot study. Clinical oral implants research. 2005;16(2):250-7. Available from: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/15777336/.

نسخه پذیرفته شده پیش از انتشار

جدول ۱. میانگین و انحراف معیار درصد استخوان ساخته شده در هر یک از گروه های مورد مطالعه

گروه‌ها	۴ هفته		۱۰ هفته	
	میانگین	انحراف معیار	میانگین	انحراف معیار
Control	۱۶/۴۰	۲/۳۶	۳۰/۲۵	۲/۴۳
DFDBA	۲۶/۴۴	۲/۵۵	۴۶/۱۱	۴/۲۰
DFDBA + Gentamicin	۳۱/۳۴	۳/۲۸	۵۴/۹۳	۶/۰۲

جدول ۲. نتایج آزمون تعقیبی توکی جهت مقایسه گروه‌های مختلف از نظر میزان استخوان سازی

گروه	۴هفته			۱۰هفته		
	Control	DFDBA	DFDBA+ Gentamicin	Control	DFDBA	DFDBA+ Gentamicin
Control		P<۰/۰۰۱	P<۰/۰۰۱		P<۰/۰۰۱	P<۰/۰۰۱
DFDBA	P<۰/۰۰۱		P=۰/۰۰۵	P<۰/۰۰۱		P=۰/۰۰۴
DFDBA+ Gentamicin	P<۰/۰۰۱	P=۰/۰۰۵		P<۰/۰۰۱	P=۰/۰۰۴	

جدول۳. درصد و تعداد نوع بافت همبندی در هر یک از گروه‌های مورد مطالعه

گروه	۴هفته (درصد)			۱۰هفته (درصد)		
	Normal	Fibrosis	Necrosis	Normal	Fibrosis	Necrosis
Control	۰ (۰/۰)	۶ (۱۰۰/۰)	۰ (۰/۰)	۵ (۸۳/۳۳)	۱ (۱۶/۶۶)	۰ (۰/۰)
DFDBA	۰ (۰/۰)	۶ (۱۰۰/۰)	۰ (۰/۰)	۴ (۶۶/۶۶)	۲ (۳۳/۳۳)	۰ (۰/۰)
DFDBA+ Gentamicin	۲ (۳۳/۳۳)	۴ (۶۶/۶۶)	۰ (۰/۰)	۳ (۵۰/۰)	۳ (۵۰/۰)	۰ (۰/۰)

نسخه پذیرفته شده پیش از انتشار

جدول ۴. درصد و تعداد محل استخوان سازی در هر یک از گروه‌های مورد مطالعه

گروه	۴ هفته (درصد)			۱۰ هفته (درصد)		
	Center	Marginal	Marginal & central	Center	Marginal	Marginal & central
Control	۰ (۰/۰)	۳ (۵۰/۰)	۳ (۵۰/۰)	۰ (۰/۰)	(۱۶/۶۶) ۱	۵ (۸۳/۳۳)
DFDBA	۰ (۰/۰)	۰ (۰/۰)	۶ (۱۰۰/۰)	۰ (۰/۰)	۰ (۰/۰)	۶ (۱۰۰/۰)
DFDBA+Gentamicin	۰ (۰/۰)	۰ (۰/۰)	۶ (۱۰۰/۰)	۰ (۰/۰)	۰ (۰/۰)	۶ (۱۰۰/۰)

جدول ۵. میانگین و انحراف معیار درصد استخوان ساخته شده در حاشیه‌ها و مرکز در هر یک از گروه‌های مورد مطالعه

گروه‌ها	۴ هفته		۱۰ هفته	
	میانگین	انحراف معیار	میانگین	انحراف معیار
درصد استخوان ساخته شده در مرکز در هر یک از گروه های مورد مطالعه				
Control	۵/۸۷	۷/۰۵	۲۲/۰۸	۱۳/۲۰
DFDBA	۱۴/۵۶	۵/۲۹	۳۳/۹۳	۸/۶۰
DFDBA + Gentamicin	۲۲/۶۴	۹/۵۴	۴۱/۶۰	۱۱/۵۸
درصد استخوان ساخته شده در حاشیه ها در هر یک از گروه های مورد مطالعه				
Control	۲۱/۶۷	۱/۷۹	۳۱/۷۲	۶/۲۳
DFDBA	۳۳/۹۰	۵/۴۲	۵۱/۱۹	۶/۱۱
DFDBA + Gentamicin	۳۵/۵۰	۵/۶۵	۶۱/۵۷	۷/۶۵

نسخه پذیرفته شده پیش از انتشار

جدول ۶. میانگین و انحراف معیار تعداد عروق ساخته شده توسط مارکر CD31 و VEGF1 در حاشیه‌ها در هر یک از گروه های مورد مطالعه

گروه‌ها	۴ هفته		۱۰ هفته	
	میانگین	انحراف معیار	میانگین	انحراف معیار
تعداد عروق ساخته شده توسط مارکر CD31				
Control	۷/۰۰	۲/۲۶	۸/۰۰	۲/۵۰
DFDBA	۷/۱۲	۳/۲۷	۹/۰۰	۳/۳۸
DFDBA + Gentamicin	۱۲/۷۵	۳/۶۹	۱۳/۳۷	۳/۵۰
تعداد عروق ساخته شده توسط مارکر VEGF1				
Control	۷/۳۷	۱/۳۰	۸/۷۵	۲/۴۹
DFDBA	۷/۸۷	۱/۸۸	۱۰/۸۷	۳/۱۳
DFDBA + Gentamicin	۱۳/۲۵	۱/۷۵	۱۶/۵۰	۲/۸۷

نسخه پذیرفته شده پیش از انتشار

نسخه پذیرفته شده پیش از انتشار