# Effect of Coral-Hydroxyapatite on bone healing in rabbits: a Radiographic Study

**Dr. Mounzer Asaad**[*]
**Dr. Izdihar ammar**[**]
**Ashraf Mahlobi** [***]

**(Received 9 / 10 / 2022. Accepted 21 / 11 / 2022)**

## □ ABSTRACT □

A lot of grafts such as tri-calcium phosphate and non-bone grafts such as coral hydroxyapatite have been widely treated and recently used in orthopedic and dental surgery.

The aim of this study was to compare radiologically the bone healing between hydroxyapatite prepared from coral in its burnt and dried models with spontaneous healing in bone defects with a diameter of 4 mm caused in the cortical bone of the left thigh of 4 male French rabbits weighing between 2 to 3 kg and aged 3 months.

The burned model was implanted in the defect proximal to the femoral head, and the dried model was implanted in the distal defect while the median defect was left blank for comparison as spontaneous recovery.

**Key words**: Bone regeneration, Hydroxyapatite, Cone beam Computed tomography, Dendrophillia cornigera

[*]**Associate Professor,Dept of Oral and Maxillofacial Surgery ,Faculty of Dentistry,Tishreen University, Lattakia, Syria**

**** Professor,Dept of Marine Biology ,Higher Institute Of marine Research ,Tishreen University, Lattakia, Syria .**

*****Postgraduate student , Dept of Oral and Maxillofacial Surgery ,Faculty of Dentistry,Tishreen University, Lattakia, Syria .**

# تأثير هيدروكسي الأباتيت المرجاني على الشفاء العظمي عند الأرانب: دراسة شعاعية

**د. منذر أسعد***

**د. ازدهار عمار****

**أشرف مهلوبي*****

**(تاريخ الإيداع 9 / 10 / 2022. قُبِل للنشر في 21 / 11 / 2022)**

## □ ملخّص □

تم التعامل مع الطعوم المغايرة مثل فوسفات ثلاثية الكالسيوم والطعوم غير العظمية مثل هيدروكسي الاباتيت المرجاني على نطاق واسع ، ومؤخراً تم استخدامها في جراحة العظام والأسنان.

الهدف من هذه الدراسة هو مقارنة الشفاء العظمي شعاعياً بين هيدروكسي الأباتيت المحضر من المرجان بنموذجيه المحروق والمجفف مع الشفاء التلقائي في عيوب عظمية بقطر 4 ملم أُحدثت في العظم القشري للفخذ الايسر لـ 4 أرانب فرنسية ذكور يتراوح وزنها بين 2 حتى 3 كغ وعمرها 3 اشهر.

تم زرع النموذج المحروق في العيب الأقرب لرأس عظم الفخذ، والنموذج المجفف في العيب الأبعد بينما ترك العيب الأوسط فارغاً للمقارنة كشفاء تلقائي.

تم التضحية بأرنبين بعد 4 اسابيع و ارنبين اخرين بعد 8 اسابيع بطريقة القتل الرحيم ثم الحصول على العظم وإجراء التصوير المقطعي المحوسب المخروطي لقياس تناقص قطر العيب العظمي.

اظهرت النتائج تفوق النموذج المجفف على النموذج المحروق خلال فترتي المراقبة وتفوق هيدروكسي الأباتيت المرجاني على الشفاء التلقائي.

**الكلمات المفتاحية:** إعادة تجدد العظم، هيدروكسي الأباتيت ،التصويرالمقطعي المحوسب المخروطي، Dendrophillia cornigera

* أستاذ مساعد، قسم جراحة الفم والفكين،كلية طب الأسنان،جامعة تشرين،اللاذقية،سورية

**أستاذ،قسم البيولوجيا البحرية، المعهد العالي للبحوث البحرية،جامعة تشرين، اللاذقية، سورية

***طالب دراسات عليا(دكتوراه) قسم جراحة الفم والفكين،كلية طب الأسنان جامعة تشرين،اللاذقية،سورية

## مقدمة

يعرف الطعم بأنه نسيج حي أو عضو يستعمل للزرع في مكان آخر ،ويستعمل تعبير transplantation لوصف زراعة نسيج حي أما تعبير implantation فيستعمل لوصف زراعة نسيج غير حي [1].

إن هدف التطعيم العظمي في جراحة الفم والوجه والفكين هو إعادة هيكل العظم الضائع المفقود، وإعادة وظائف جهاز الارتباط العظمي وتعويض الشكل الخارجي [2].وقد أكدت الدراسات والتجارب السريرية إمكانية إعادة الارتباط بوساطة الطعوم العظمية، ولقد استخدمت الطعوم العظمية منذ مئة عام في محاولات لتحريض شفاء الافات العظمية [3].

وتعود المحاولات الاولى لإعادة بناء العظم المفقود بوساطة الطعوم العظمية للباحث hegedus الذي استخدم في البداية الطعوم العظمية من النتوء السنخي ،وبذلت جهود كثيرة منذ ذلك الوقت لتحديد استطبابات وتقانات استخدام الطعوم العظمية. [4].

زاد اهتمام جراحي الفم والفكين في السنوات الاخيرة في البحث عن طعم عظمي يحاكي في خواصه وبنيته البلورية العظم البشري الطبيعي ويكون بديلاً عن الطعم الذاتي، والذي يترافق استخدامه مع الرض والانتان [5]هنالك العديد من بدائل العظم المتوفرة (ذاتية، متغايرة، أجنبية، غير عظمية) [6].ومن الطعوم غير العظمية فوسفات ثلاثية الكالسيوم ، الهيدروكسي اباتيت والمرجان الحيوي .

تصنف الطعوم العظمية حسب مصدرها الى ذاتية و مغايرة واجنبية وطعوم غير عظمية. ،ولا يزال الطعم العظمي الذاتي هو المعيار الذهبي في عملية التطعيم لانه يعمل كمحرض وموجه ومولد للعظم[7].

كما تعد الطعوم العظمية الذاتية هي الأفضل لعدم تحريضها للجهاز المناعي ، واما المتغايرة فهي نسج مأخوذة من النوع نفسه (من شخص لآخر) ويمكن لها ان تكون طازجة، مجمدة ، مجمدة ومجففة ومنزوعة الكلس.

بينما تكون الطعوم الاجنبية فهي عبارة عن نسج منقولة من نوع لآخر كالعظم البقري مثلاً[8].

واخيراً تعد الطعوم غير العظمية من مواداً غريبة عن الجسم متوافقة حيوياً للزرع ومثال عنها فوسفات ثلاثية الكالسيوم و الهيدروكسي اباتيت والمرجان الحيوي، ويتوقف اختيار المواد الحيوية في الممارسة السريرية على توافقها الحيوي ، قابليتها للتحلل البيولوجي والنشاط الحيوي لها[9]، ومن شروط التطعيم المثالي ان تعمل المادة كركيزة لنمو العظام في العيب الموجود فضلاً عن قدرتها على الاحتفاظ بحجم المنطقة المطعمة[10].

## أهمية البحث وأهدافه

### أهمية البحث

تنبع اهمية البحث من تقييم فعالية هيدروكسي الاباتيت المرجاني في ترميم العيوب العظمية غير الحرجة عند حيوانات التجربة قبل التطبيق السريري لها، والمقارنة بين النموذجين المحروق والمجفف شعاعياً.

بالإضافة الى القدرة على الاستفادة من الموارد البحرية الحية كالنوع المرجاني المستخدم في البحث في المجال الطبي والحصول على طعوم عظمية فعالة.

### هدف البحث

التأكد من فعالية الهيدروكسي اباتيت المرجاني في ترميم العيوب العظمية غير الحرجة المحدثة عند حيوانات التجربة شعاعياً.

## طرائق البحث ومواده

تم تحضير المركب من قبل الباحثين بالاعتماد على طريقة التحويل الحراري المائي لحبيبات المرجان المطحون من نوع Dendrophillia cornigera وتوصيف المركب الناتج لاثبات تركيبه الكيميائي على انه هيدروكسي الاباتيت وذلك باستخدام مطيافية الاشعة تحت الحمراء وانعراج الاشعة السينية و المجهر الالكتروني الماسح والتحليل العنصري[11]

## حيوانات التجربة:

تمت التجربة على 4 أرانب فرنسية بيضاء تزن 2 حتى 3 كغ بعمر 3 اشهر ، تم احضارها وتركها لمدة 7 ايام لتتأقلم مع المكان قبل الاجراء الجراحي لها، تعتبر الأرانب من اكثر نماذج الحيوانات شيوعاً، وهي تحتل المرتبة الاولى بين جميع الحيوانات المستخدمة في أبحاث الهيكل العظمي العضلي والتي تتعلق بتقييم المواد الحيوية والبدائل المتعددة [12] ، ويعتبر الحجم الصغير للأرنب العيب الرئيسي لدراسة زراعة الطعوم العظمية، ولكن من محاسنه وجود التشابه بين كثافة المعادن في العظام بين الأرانب والبشر[13]. بالمقارنة مع الأنواع الأخرى من القوارض.

للأرنب تغيرات هيكلية سريعة مع دوران دموي عظمي مرتفع [14]، علاوة على أنها متاحة بسهولة ويسهل الوصول اليها في المنزل ، هذه الايجابيات تجعل الأرانب الخيار الأول عند قيام الباحثين بتطوير نموذج حيواني لاختبار مواد حيوية في الجسم الحي .

## الإجراء الجراحي:

تم تحضير جميع الأدوات والأدوية اللازمة للعمل الجراحي كما في الشكل [1]. وتحت التخدير الموضعي باستخدام الكيتامين كمخدر موضعي مع الاكزيلازين من قبل الطبيب البيطري المختص تم حقن كل فرد من الارانب حقنة عضلية بمعدل 10 ملغ/كغ كيتامين وحقنة عضلية بمعدل 3 ملغ / كغ من الاكزيلازين [15].

تحدث هذه الحقن نوع من كسل التركيز الذهني التركيني حتى الوصول الى التخدير الانفصالي.

وتم تحضير منطقة الفخذ الأيسر في جميع أفراد العينة بحلاقة أشعار فراء الأرنب بواسطة آلة الحلاقة الخاصة بالحيوانات، ثم غسل المنطقة بالماء والصابون، ومسحها بمحمول اليود. الشكل [2] ، تلاه اجراء شق جلدي بطول 3 سم في منطقة الفخذ في مكان يقابل تلاقي العضلة ذات الرأسين الفخذية والعضلة الموترة للفافة العريضة وتسليخ الجلد للوصول الى صفاق العضلات. الشكل [3]

**الشكل (1)الاكزيلازين والكيتامين و ادوات الاجراء الجراحي**

استخدمنا سنابل تريفين بقطر 4 ملم لإحداث العيوب العظمية وعلى عمق 2 ملم لاختراق القشرة العظمية كما في الشكل [4] ،وضع حبيبات الطعم المحروق في العيب الأقرب الى راس عظم الفخذ والنموذج المجفف في الأبعد بينما ترك العيب الأوسط فارغاً للمراقبة. الشكل [5]، غطيت العيوب باستخدام غشاء تيفلون من نوع BTFE غير ممتص الشكل [6] وتمت الخياطة باستخدام خيوط الكاتكوت البسيط القابلة للامتصاص، ثم وضع ضماد لاصق الشكل [7] وحقن الارنب بمسكن موضعي ومضاد التهاب .

**الشكل (2)التخدير العضلي واجراء الشق الجلدي**

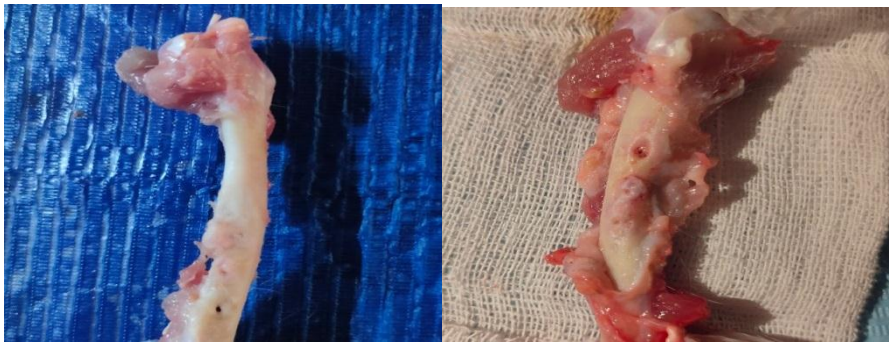
**الشكل (3): التسليخ الكليل للوصول الى صفاق العضلات**

**الشكل (4):اجراء العيوب العظمية** **الشكل (5): وضع الطعم ضمن العيوب**

**الشكل (6): وضع غشاء غير ممتص** **الشكل (7):وضع ضماد**

## التضحية بعد 4 و 8 اسابيع على الترتيب:

تم التضحية بطريقة الموت الرحيم لاثنين من العينة بعد 4 اسابيع و اثنين بعد 8 اسابيع من وضع الطعم والحصول على عظم الفخذ لإجراء الدراسة الشعاعية كما في الشكل 8



**الشكل (8)عظم الفخذ بعد التضحية، نلاحظ العيوب**

تلا ذلك إجراء تصوير شعاعي للعظم باستخدام جهاز التصوير المقطعي المخروطي المحوسب كما في الشكل[9] وذلك لقياس قطر العيب بعد 4 اسابيع و بعد 8 اسابيع في كل من العيوب الثلاثة.

**الشكل (9): جهاز التصوير المقطعي المخروطي المحوسب المستخدم في الدراسة**

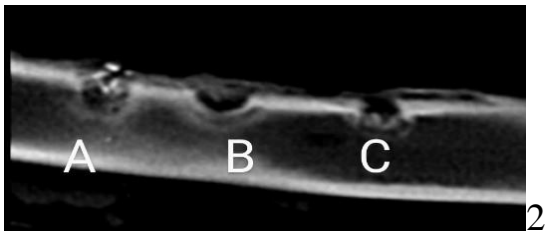
تم تقييم التشكل العظمي بعد 4 و 8 اسابيع لأفراد العينة حسب مقياس Lane and Sandhu المعدل [16].

**الجدول رقم 1 مقياس Lane and Sandhu الشعاعي المعدل تشكل العظم :**

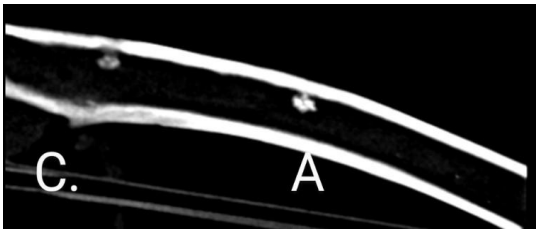
| | |
|---|---|
| لايوجد دليل على تشكل العظم | 0 |
| حدوث تشكل عظمي 25% من حجم العيب | 1 |
| حدوث تشكل عظمي 50% من حجم العيب | 2 |
| حدوث تشكل عظمي 75% من حجم العيب | 3 |
| حدوث تشكل عظمي 100% من حجم العيب | 4 |

## النتائج والمناقشة:

تم تقييم تناقص حجم العيب بعد 4 و 8 اسابيع لجميع حيوانات التجربة.



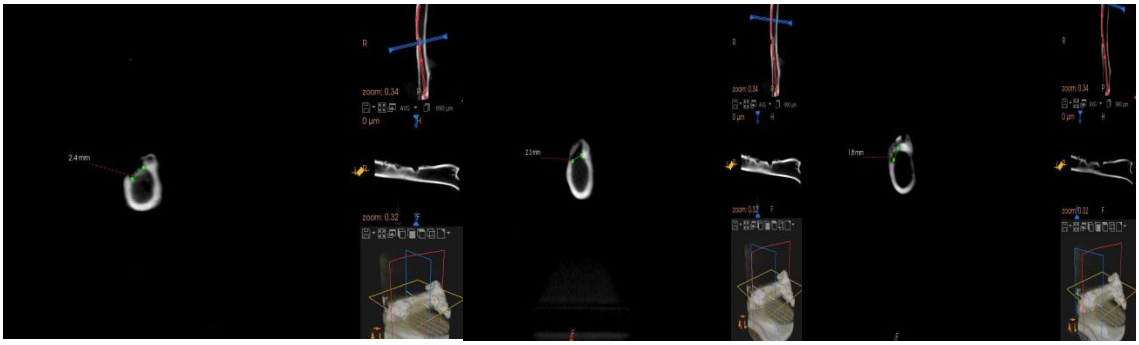

تم الحصول على الصور التالية الخاصة بالارنب 1 والارنب 2




**الشكل (10)الفرق شعاعياً بين الطعم المجفف والمحروق في الارنبين 1 و 2**

A : العيب المملوء بالطعم المحروق.B : العيب الفارغ الأوسط.C : العيب المملوء بالطعم المجفف.

حيث نلاحظ في العيب A النموذج المحروق الاكثر ظلالية بالمقارنة مع النموذج المجفف C



**الشكل (11)العيب الاسفل والعيب الاوسط والاعلى على الترتيب في الارنب الاول**

**الموجودات الشعاعية للأرنب 2 :**

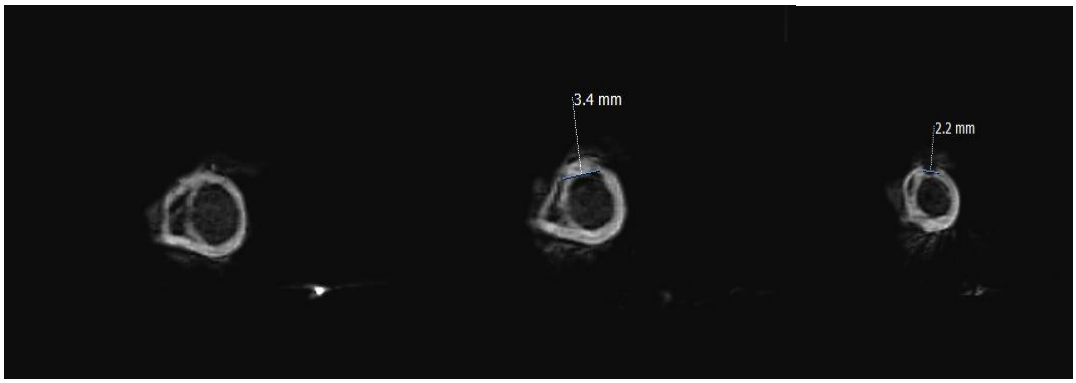
**الشكل (12)العيب الاوسط و الاعلى والاسفل في الأرنب الثاني**

ونوضح ذلك بالجدول التالي:

**الجدول رقم 2 قيم المتغيرات الشعاعية للارنبين الاول والثاني**

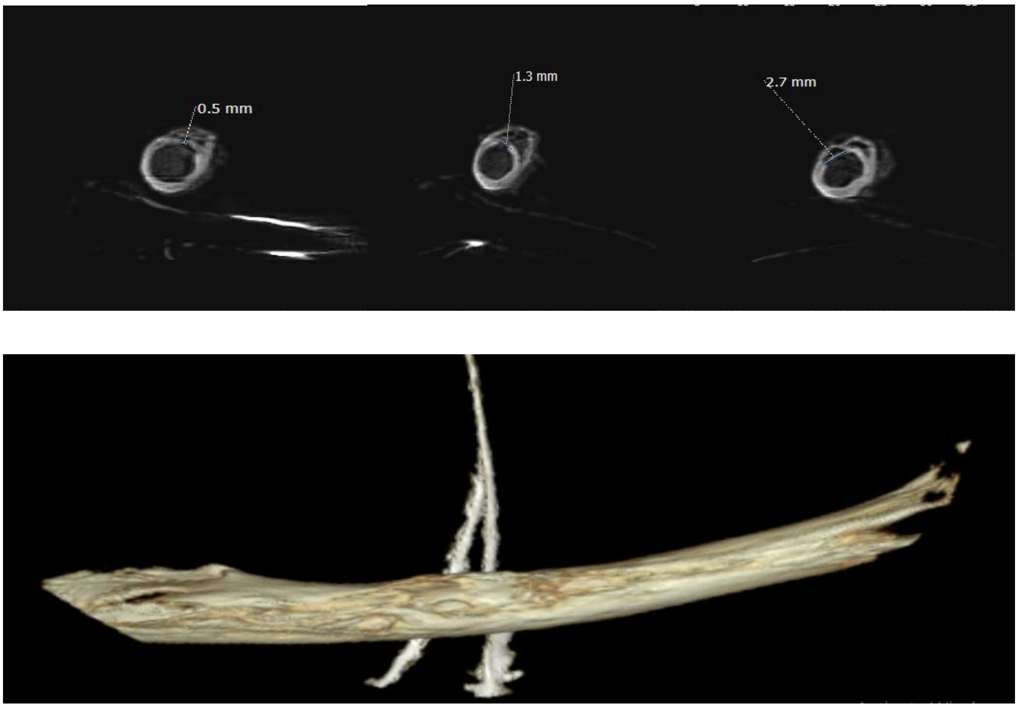
| | ارنب 1 | ارنب 2 |
|---|---|---|
| عيب اعلى(محروق) | 2.4 ملم | 1.5 ملم |
| عيب أوسط فارغ | 2.3 ملم | 1.2 ملم |
| عيب اسفل (مجفف) | 1.8 ملم | 1.1 ملم |

**الموجودات الشعاعية للأرنب 3 :**



**الشكل (13)يمثل اقطار العيوب العظمية (محروق، وسطي فارغ ، مجفف) على الترتيب**

## الموجودات الشعاعية للأرنب 4 :




**الشكل (14)يمثل اقطار العيوب العظمية (محروق، وسطي فارغ ، مجفف) على الترتيب**

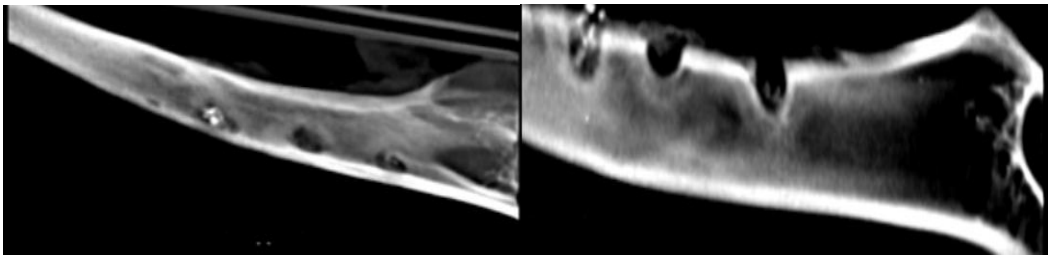
ونوضح ذلك بالجدول التالي:

**الجدول رقم 3 قيم المتغيرات الشعاعية للارنبين الثالث والرابع**

| | ارنب 3 | ارنب 4 |
|---|---|---|
| عيب اعلى(محروق) | 2.2 ملم | 2.7 ملم |
| عيب متوسط فارغ | 3.4 ملم | 1.3 ملم |
| عيب اسفل (مجفف) | 0.8 ملم | 0.5 ملم |

**الجدول رقم 4الموجودات الشعاعية لشفاء العيوب العظمية حسب مقياس lane and sandhu كانت على الشكل التالي :**

| فترة المراقبة | متوسط (اعلى ـــ اقل)<br>ارنب 1 وارنب 2 | متوسط (اعلى ـــ اقل)<br>ارنب 3 وارنب 4 |
|---|---|---|
| 4 اسابيع | 1 | ــــــــ |
| 8 اسابيع | ــــــــ | 2 |



**الشكل (15) :العيوب العظمية وتشكل العظم عند 4 اسابيع و 8 اسابيع**

## مناقشة قطر العيب العظمي :

كان قطر العيب المحدث 4 ملم وهو بطبيعة الحال قطر سنبلة التريفاين التي تؤمن قطف طعم حلقي الشكل، نلاحظ تناقص قطر العيب العظمي خلال فترتي المراقبة بالنسبة للنموذج المجفف بنسبة اكبر من النموذج المحروق والعيب الفارغ ،مع افضلية للشفاء التلقائي في العيب المتوسط عن النموذج المحروق، يعزى ذلك الى قدرة الانحلالية العالية للنموذج المجفف والعمل كسقالة في ترميم العيب المحدث بالمقارنة مع المحروق وقد يعزى ذلك بسبب حرق المركب قد اثر على التركيب الكيميائي وفقدان هذه الخاصية.

تتوافق نتائج البحث الحالي مع دراسة J Skubiszewska-Zie˛ba وزملاؤه عام 2017 الذي اكد افضلية النموذج المجفف عن النموذج المحروق [17].، في حين أظهرت دراسة اخرى لـ Nazia Bano وزملاؤه عام 2017 ان زيادة درجة الحرارة بتحويل النموذج المجفف الى المحروق يؤدي الى طرد الكربونات وزيادة الكالسيوم وبالتالي الوصول الى هيدروكسي اباتيت مفيد في الاعمال الجراحية الطبية[18].

**مناقشة تشكل العظم:**

حسب مقياس Lane and Sandhu الشعاعي المعدل المشار اليه في الجدول رقم 1 ، نلاحظ انه في المرحلة الاولى بعد 4 اسابيع لا يوجد اي دليل على تشكل العظم شعاعياً على الرغم من انه قد يكون هنالك دليل نسيجي غير مدروس حالياً.

وكما نعلم يحتاج العظم لإعادة ترميم العيوب غير الحرجة مدة تصل حتى 4 اشهر تقريباً حتى يتم التعظم الكامل بعد تشكل الدشبذ العظمي.

أظهرت نتائج دراستنا توافق مع Matthew R. Allen,David B. Burr, [19] ولم نختلف مع اية دراسة .

في المرحلة الثانية بعد 8 اسابيع نلاحظ بدء تشكل العظم شعاعياً بدرجة تتجاوز 25 % في كل من العيبين المملوئين بالطعم العظمي وهذا يدل على بدء عملية اعادة القولبة والتشكل العظمي، اتفقنا مع Matthew R. Allen, David B. Burr واختلفت هذه النتائج مع Zahra Shafiei-Sarvestani وزملاؤه عام 2012 وقد يعزى سبب الاختلاف الى اختلاف مكان وضع الطعم حيث وضعوه في عظم الكعبرة وبطول 10 ملم [20] .

## الاستنتاجات والتوصيات

### الإستنتاجات:

1- يمكننا القول ان عملية اعادة البناء والقولبة العظمية تبدأ شعاعياً بعد مدة شهرين من احداث العيب في شروط هذه الدراسة.

2- استخدام التصوير المقطعي المحوسب المخروطي لتقييم التشكل العظمي و قطر العيب المحدث .

### التوصيات:

1- نوصي بإستخدام الارانب كحيوانات تجربة على تقييم فعالية مواد مغروسة .

2- نوصي باستخدام هيدروكسي الأباتيت المرجاني في ترميم العيوب الصغيرة غير الحرجة التي تقيس حتى 4 ملم قطراً

## References

1.Yip, I.; Ma, L.; Mattheos, N.; Dard, M.; Lang, N.P. *Defect healing with various bone substitutes. Clin. Oral Implants Res*. **2015**, 26, 606–614.

2. Wang, R.E.; Lang, N.P. *Ridge preservation after tooth extraction*. Clin. Oral Implants Res. **2012**, 23 (Suppl. 6),
147–156.

3. Misch, C.M. *Autogenous bone*: *Is it still the gold standard? Implant Dent*. **2010**, 19, 361.

4. Le, B.Q.; Nurcombe, V.; Cool, S.M.; van Blitterswijk, C.A.; de Boer, J.; La Pointe, V.L.S. *The Components of Bone and What They Can Teach Us about Regeneration. Materials* **2017**, 11, E14.

5. Henkel, J.; Woodruff, M.A.; Epari, D.R.; Steck, R.; Glatt, V.; Dickinson, I.C.;
Choong, P.F.; Schuetz, M.A.;Hutmacher, D.W. *Bone regeneration based on tissue engineering conception*s—A 21st century perspective.Bone Res. **2013**, 1, 216–248.

6. Schlickewei,W.; Schlickewei, C. *The Use of Bone Substitutes in the Treatment of Bone Defects-the Clinical View and History. Macromol. Symp*. **2007**, 253, 10–23.

7. Chan, H.L.; Lin, G.H.; Fu, J.H.;Wang, H.L. *Alterations in bone quality after socket preservation with grafting materials: A systematic review*. Int. J. Oral Maxillofac. Implants **2013**, 28, 710–720.

8. Iocca, O.; Farcomeni, A.; Pardiñas Lopez, S.; Talib, H.S. *Alveolar ridge preservation after tooth extraction*: A Bayesian Network meta-analysis of grafting materials efficacy on prevention of bone height and width reduction. J. Clin. Periodontol. **2017**, 44, 104–114.

9. Danesh-Sani, S.A.; Engebretson, S.P.; Janal, M.N. *Histomorphometric results of different grafting materials and effect of healing time on bone maturation after sinus floor augmentation*: A systematic review and meta-analysis. J. Periodontal Res. **2017**, 52, 301–312.

10. Jambhekar, S.; Kernen, F.; Bidra, A.S. *Clinical and histologic outcomes of socket grafting after flapless tooth extraction: A systematic review of randomized controlled clinical trials*. J. Prosthet. Dent. **2015**, 113, 371–382.

11. Asaad M, Ammar I , Mahlobi A. *Preparation of the chemical compound hydroxyapatite based on sea coral Dendrophyllia Cornigera as a Vital source*: an in vitro study: Tishreen University Journal for Research and Scientific Studies - Health Sciences Series Vol. (44) No. (4) 2022

12.Neyt J, Buckwalter JA, Carroll N. *Use of animal models in musculoskeletal research.* Iowa Orthop J 1998;18:118e23.
13.Wang X, Mabrey JD, Agrawal CM. *An interspecies comparison of bone fracture properties*. Bio-med Mater Eng 1998;8:1e9.
14 .Castaneda S, Largo R, Calvo E, Rodriguez-Salvanes F,Marcos ME, Diaz-Curiel M, et al. *Bone mineral measurements of subchondral and trabecular bone in healthy and osteoporotic rabbits.* Skelet Radiol 2006;35:34e41
15. Joanne Sohn and Marcelo A. *Couto Chapter 8 in The Laboratory Rabbit*, Guinea Pig, Hamster, and Other Rodents. 2012, Pages 195-215.
16. Lane JM, Sandhu HS. *Current approach to experimental bone grafting*. Orthop Clin North Am 1987;18:213e25
17. J Skubiszewska-Zie¸ba, B Charmas and H Waniak-Nowicka, *Adsorption Science & Technology*2017, Vol. 35(7–8) 668–676
18. Nazia Bano Suzi Salwah Jikan1*, Hatijah Basri1, Sharifah Adzila S. Abu Bakar2, Awwal Hussain Nuhu1 *Journal of Science and Technology*, Vol. 9 No. 2 (2017) p. 22-28.
19. Matthew R. Allen ;David B. Burr ,*Bone Growth, Modeling, and Remodeling* Basic and Applied Bone Biology, Second Edition, United States2019,100.
20. Zahra Shafiei-Sarvestani a, Ahmad Oryan b, Amin Sadegh Bigham c, Abdolhamid Meimandi-Parizi d,* *International Journal of Surgery* 10 (2012) 96e101