بسم الله الرحمن الرحیم

دانشگاه شهید چمران اهواز
دانشکده دامپزشکی

۹۳۷۹۹۸۴

پایان‌نامه دکترای عمومی دامپزشکی

عنوان:

اثر فلورفنیکل روی ناهنجاری‌زایی اسکلتی جنین موش صحرایی

اساتید راهنما:

دکتر حسین نجف زاده ورزی

دکتر محمود خاکساری مهابادی

نگارش:

مینا بارانی زاده

شهریور ماه۱۳۹۳

بسمه تعالی

دانشگاه شهید چمران اهواز

دانشکده دامپزشکی

(نتیجه ارزشیابی پایان نامه‌ی دکتری عمومی)

پایان‌نامه‌ی خانم **مینا بارانی زده** دانشجوی رشته: **دامپزشکی** از دانشکده دامپزشکی به شماره دانشجویی: **۸٦۷۹۰۸** تحت عنوان: **اثر فلورفنیکل روی ناهنجاری‌زایی اسکلتی جنین موش صحرایی،** جهت اخذ مدرک **دکتری عمومی دامپزشکی** در تاریخ ۱۳۹۳/٦/۳۱ توسط هیأت محترم داوران مورد ارزشیابی قرار گرفت و با درجه **ممتاز** به تصویب رسید.

۱- اعضای هیأت داوران	**مرتبه علمی**	**سمت**	**امضا**
دکتر حسین نجف زاده ورزی	استاد	استاد راهنمای اول	
دکتر محمود خاکساری مهابادی	دانشیار	استاد راهنمای دوم	
دکتر یزدان مظاهری	دانشیار	استاد داور	
دکتر رضا رنجبر	دانشیار	استاد داور	
دکتر مجتبی علیشاهی	دانشیار	استاد ناظر	
۲- دکتر سید رضا فاطمی	دانشیار	مدیر گروه	
۳- دکتر محمد حسین راضی جلالی	دانشیار	معاون پژوهشی دانشکده	
٤- دکتر عبدالرحمن راسخ	استاد	مدیر تحصیلات تکمیلی دانشگاه	

گواهی صحت و اصالت

عنوان پایان‌نامه: **اثر فلورفنیکل روی ناهنجاری زایی اسکلتی جنین موش صحرایی** اینجانب **مینا بارانی زاده دانشجوی دکترای عمومی رشته‌ی دامپزشکی دانشکده دامپزشکی دانشگاه شهید چمران** به شماره دانشجویی **۸٦۷۹۰۸** تحت راهنمایی **دکتر حسین نجف زاده ورزی** و **دکتر محمود خاکساری مهابادی** گواهی می‌دهم که:

۱- تحقیقات ارائه شده در این پایان‌نامه حاصل مطالعات علمی و عملی شخص اینجانب بوده و صحت و اصالت تمام مطالب مندرج در آن را تایید می‌کنم.

۲- در صورت استفاده از آثار دیگران، مشخصات کامل آن‌ها را در منابع ذکر نموده‌ام.

۳- تاکنون مطالب درج شده در این پایان نامه، توسط اینجانب یا شخص دیگری به منظور اخذ هر نوع مدرک یا امتیازی به هیچ مرجعی تسلیم نشده و بعد از این نیز نخواهد شد.

٤- در تدوین متن پایان نامه، شیوه‌نامه مصوب دانشکده را رعایت نموده‌ام.

۵- کلیه حقوق معنوی این اثر به دانشگاه شهید چمران تعلق داشته و مقالات مستخرج از آن، ذیل نام دانشگاه شهید چمران اهواز (ShahidChamran University of Ahvaz)به چاپ خواهد رسید.

٦- حقوق معنوی تمامی افرادی که در این پایان‌نامه تاثیرگذار بوده‌اند (اساتید راهنما و مشاور) در مقالات مستخرج از آن رعایت خواهد شد.

۷- در صورت استفاده از موجودات زنده یا بافت های آن‌ها، کلیه ضوابط و اصول اخلاقی مندرج در منشور موازین و اصول اخلاق پژوهش وزارت علوم، تحقیقات و فناوری رعایت شده است.

در صورت اثبات تخلف از مندرجات فوق، مسئولیت هر گونه پاسخگویی به اشخاص حقیقی و حقوقی و مراجع ذیصلاح بر عهده اینجانب بوده و دانشگاه شهید چمران هیچ مسئولیتی بر عهده نخواهد داشت. همچنین در صورت تضیع حقوق و منافع دانشگاه، حق پیگیری موضوع در مراجع ذیصلاح و اعمال قوانین مربوطه برای دانشگاه شهید چمران در حال و آینده محفوظ بوده و اینجانب مسئول پرداخت کلیه خسارات وارده خواهم بود.

تاریخ: ۱۳۹۳/٦/۳۱

مینا بارانی زاده

مالکیت نتایج و حق نشر

کلیه‌ی حقوق معنوی این اثر و محصولات آن (مقالات مستخرج، برنامه های رایانه ای، نرم افزارها وتجهیزات ساخته شده) به دانشگاه شهید چمران تعلق داشته و بدون اخذ اجازه کتبی از دانشگاه قابل واگذاری به غیر نیست. استفاده از اطلاعات و نتایج این پایان نامه بدون ذکر مرجع مجاز نیست.

این پایان نامه را در کمال افتخار تقدیم
می نمایم به:

پدرم
و
مادرم ، تمام هستی و
سرچشمه ی وجودم....

تشکر و سپاس

پروردگارا،

هر چه دارم از لطف و مهرباني توست و خوب مي دانم که هيچ گاه نمي‌توانم سپاسگذار اين همه خوبي تو باشم، اما تو با لطف بي‌پايان خود سپاس مرا بپذير، اي مهربان دوست داشتني.

اکنون که به لطف خداوند مهربان این تحقیق به پایان رسیده برخود لازم مي دانم از همه عزيزاني که مرا در انجام آن ياري نموده اند، تقدیر و تشکر نمایم.

از اساتید راهنماي ارجمند جناب آقای دکتر **نجف زاده** و جناب آقای دکتر **خاکساری** که همواره با راهنمايي‌هاي ارزنده مرا مرهون لطف و محبت خود قرار داده‌اند کمال تشکر و قدرداني را دارم.

از اساتید محترم جناب آقای دکتر **رنجبر** و جناب آقای دکتر **مظاهری** که زحمت داوری این پایان نامه را تقبل کردند و جناب آقای دکتر علیشاهی نماینده تحصیلات تکمیلی ، کمال تشکر و قدرداني را دارم.
همچنین تقدیر و تشکرمی کنم از کلیه اساتیدمحترمی که در طول این دوره تحصیلی افتخار شاگردیشان را داشتم.

در نهايت از محبت هاي صميمانه **دوستان** و **همکلاسی‌های** عزيزم تشکر و قدرداني مي نمايم و از درگاه خداوند متعال سلامتي، موفقيت، و توفيق روز افزون آن‌ها را خواستارم.

مینا بارانی زاده

شهریور ماه ۱۳۹۳

عنوان **فهرست مطالب** **صفحه**

چکیده ۱

فصل اول: مقدمه و هدف ۳

فصل دوم: مروری بر منابع ۶

الف- هیستوژنز غضروف و استخوان ۷

الف-۱- روند تشکیل غضروف ۸

الف-۲- روند تشکیل استخوان از طریق داخل غشایی و داخل غضروفی۹

الف-۳- استخوانی شدن داخل غشایی ۱۰

الف-۴- استخوانی شدن داخل غضروفی ۱۲

ب- تراتولوژی ۱۲

ب-۱- تراتوژن‌ها ۱۴

ب-۲- چگونگی عمل تراتوژن‌ها ۱۴

ب-۳- شناخت عمل تراتوژن‌ها۱۶

ب-۴- اثرات ژنتیک و محیط ۱۷

ج- برخی از ناهنجاری‌های جنین ۱۸

د- دسته بندی داروها ۲۱

د-۱- عبور دارو از جفت ۲۳

عنوان **فهرست مطالب** **صفحه**

د-۲- عوامل موثر بر انتقال مواد از پرده‌های جفت ۲۳

هـ- فلورفنیکل ۲۴

هـ-۱- ساختمان شیمیایی ۲۴

هـ-۲- نگهداری و پایداری فلورفنیکل ۲۵

هـ-۳- طیف اثر ضد باکتری ۲۵

هـ-۴- مکانیسم اثر ۲۶

هـ-۵- فارماکوکینتیک ۲۷

هـ-۵-۱- جذب ۲۷

هـ-۵-۲- توزیع دارو ۲۸

هـ-۵-۳- متابولیسم و دفع دارو ۲۸

هـ-۶- دوز فلورفنیکل ۳۰

هـ-۷- عوارض جانبی ۳۱

هـ-۸- مسمومیت حاد ۳۲

هـ-۹- تداخل‌های دارویی ۳۲

هـ-۱۰- شکل دارویی ۳۳

عنوان **فهرست مطالب** **صفحه**

فصل سوم: مواد و روش کار ۳۴

الف- موارد مورد استفاده ۳۵

ب- وسایل مورد استفاده ۳۶

ج- روش کار ۳۷

ج-۱- تجویز داروها ۳۷

ج-۲- طرز تهیه نمونه‌های جنین موش‌های صحرایی ۳۹

ج-۳- مطالعه استخوان جنین‌ها با روش شفاف کردن ۳۹

د- آنالیز آماری ۴۱

فصل چهارم: نتایج ۴۲

الف- نتایج استحصال جنین‌ها و تعیین وزن و طول آن‌ها ۴۳

الف-۱- نتایج وزن جنین‌ها ۴۵

الف-۲- نتایج طول جنین‌ها ۴۷

ب- نتایج ارزیابی نقایص اسکلتی جنین‌ها در موش‌های دریافت کننده دارو ۴۹

ب-۱- نتایج ماکروسکوپی و میکروسکوپی ناهنجاری‌ها ۴۹

فصل پنجم: بحث و نتیجه گیری ۵۵

پیشنهادات ۶۳

منابع ۶۴

چکیده انگلیسی ۷۴

جدول **فهرست جداول** **صفحه**

جدول ٤-۱: نشان‌دهنده تعداد موش‌های صحرایی آبستن، درصد جنین‌های زنده و درصد جنین‌های جذب شده در گروه‌های مختلف مورد مطالعه..... ٤٤

جدول۴-۲: تعداد و درصد ناهنجاری‌های مشاهده شده در جنین‌های گروه‌های مختلف ۵۰

نمودار **فهرست نمودار** **صفحه**

۴-۱: مقایسه میانگین ± خطای استاندارد وزن (گرم) در جنین‌های گروه‌های مختلف تحت مطالعه ۴۶

۴-۲: مقایسه میانگین± خطای استاندارد طول (میلی متر) در جنین‌های گروه‌های مختلف تحت مطالعه

تصویر **فهرست تصاویر** **صفحه**

۴۴-۲: جنین بیست روزه موش صحرایی گروه دریافت کننده فلورفنیکل ۴۰۰ **۵۱**

۴-۳: جنین جذب شده موش‌های صحرایی در گروه دریافت کننده فلورفنیکل. ۵۲

۴-۴: تصویر استریومیکروسکوپی سطح شکمی جمجمه جنین بیست روزه موش صحرایی پس از برداشتن فک پایین (رنگ آمیزی آلیزارین قرمز- آلسین آبی) ۵۲

۴-۵: تصویر استریومیکروسکوپی جناغ جنین بیست روزه موش صحرایی (رنگ آمیزی آلیزارین قرمز- آلسین آبی) ۵۳

۴-۶: تصویر استریومیکروسکوپی نمای جانبی اندام قدامی جنین بیست روزه موش صحرایی (رنگ آمیزی آلیزارین قرمز- آلسین آبی) ۵۳

۴-۷: تصویر استریومیکروسکوپی نمای جانبی اندام خلفی جنین بیست روزه موش صحرایی (رنگ آمیزی آلیزارین قرمز- آلسین آبی) ۵۴

عنوان پایان نامه: اثر فلورفنیکل روی ناهنجاری زایی اسکلتی جنین موش صحرایی	
اساتید راهنما: دکتر حسین نجف زاده ورزی و دکتر محمود خاکساری مهابادی	
درجه تحصیلی: دکترای حرفه‌ای	**رشته:** دامپزشکی
دانشگاه:شهید چمران اهواز	**دانشکده:** دامپزشکی
تاریخ فراغت از تحصیل: ۱۳۹۳/۶/۳۱	**تعداد صفحه:**۷۴ صفحه
کلید واژه‌ها: فلورفنیکل، ناهنجاری‌های اسکلتی جنینی، موش صحرایی	

فلورفنیکل یک آنتی‌بیوتیک وسیع الطیف است که برای درمان بیماری های مختلف به کلو می‌رود. از آن جایی که مدرکی دال بر اثرات ناهنجاری زایی فلورفنیکل در دسترس نیست، هدف از مطالعه حاضر بررسی اثرات ناهنجاری‌زایی فلورفنیکل روی سیستم اسکلتی جنین موش صحرایی بود. این مطالعه روی ۳۹ سر موش آبستن در ۵ گروه انجام شد که به ترتیب گروه اول (گروه کنترل) و گروه ۲ الی ۵ (گروه‌های آزمایش) فلورفنیکل با دوز ۱۰۰، ۲۰۰، ۴۰۰ و ۸۰۰ میلی‌گرم به ازای هر کیلو گرم وزن بدن دریافت نمودند. دارو در روز هشتم و دهم آبستنی به صورت داخل صفاقی تجویز شد. در روز بیستم آبستنی موش ها آسان کشی شدند و پس از استحصال جنین‌ها، قد و وزن آن‌ها تعیین شد و با روش رنگ‌آمیزی آلیزارین قرمز-آلیسین آبی رنگ‌آمیزی شدند، سپس سیستم اسکلتی به وسیله دستگاه استریو میکروسکوپ بررسی شد . درصد جذب جنین در گ روه‌های ۱ تا ۵، ۴/۰۹، ۲۲/۶۴، ۴۴/۶۸، ۵۳/۵۷ و ۵۹/۳۲% بود. ناهنجاری‌های اسکلتی مشاهده شده شامل شکاف کام، ناهنجاری جناغ و کاهش استخوانی شدن اندام حرکتی قدامی و خلفی بودند که در گروه ۴ (۴۰۰ میلی‌گرم)، ۱۱/۵۳، ۱۱/۵۳ و ۱۱/۵۳% و در گروه ۵ (۸۰۰ میلی‌گرم) ، ۲۰/۸۳، ۱۲/۵۰ و ۳۷/۵۰% بود. بنابراین می‌توان نتیجه گرفت که فلورفنیکل به صورت وابسته به دوز سبب وقوع ناهنجاری های سیستم اسکلتی از جمله شکاف کام، ناهنجاری جناغ، جذب جنین و کاهش استخوانی شدن اندام حرکتی قدامی و خلفی در جنین موش صحرایی می‌شود.

فصل اول

مقدمه و هدف

فصل اول: مقدمه و هدف

یکی از آنتی‌بیوتیک‌هایی که امروزه استفاده زیادی در دامپزشکی دارد فلورفنیکل است . کلرامفنیکل و تیامفنیکل به عنوان آنتی‌بیوتیک‌های وسیع الطیف دامپزشکی استفاده می شوند (Zhang و همکاران، ۲۰۰۸). در مطالعه‌ای Power و همکاران در سال ۱۹۸۸ گزارش کردند که فلورفنیکل به خاطر پتانسیل و ایمنی بالای آن یک داروی بزرگ در علم دامپزشکی نسبت به سایر ترکیبات محسوب می‌شود.

فلورفنیکل آنتی‌بیوتیک باکتریو استاتیک وسیع الطیفی است که با همه باکتری های گرم مثبت و گرم منفی مقابله می‌کند (Cannon و همکاران، ۱۹۹۰). فلورفنیکل مشتق فلورینه شده و آنالوگ ساختاری تیامفنیکل است که به جای گروه هیدروکسیل آن یک اتم فلورین جایگزین شده است (sams، ۱۹۹٤). این جایگزینی آنتی‌بیوتیک فعال‌تری را در شرایط آزمایشگاهی نسبت به تیامفنیکل به وجود آورده است (Lobell و ه مکاران، Varma؛۱۹۹٤ و همکاران، ۱۹۸٦). مکانیسم عمل این آنتی‌بیوتیک بر اساس توانایی آن در مهار سنتز پروتئین به واسطه باند شدن با زیر واحد ریبوزومی ۵۰S عوامل باکتریایی پاتوژن‌های حساس است (Plumb.D، ۲۰۰٤). اگر چه جایگاه عمل آن مشابه کلرامفنیکل و تیامفنیکل است ولی ساختار فارماکولوژیکی فلورفنیکل موجب

شده است که مقاومت آن در برابر باکتری‌ها بیشتر باشد. نتایج یک مطالعه نشان می‌دهد که فلورفنیکل در مقابله با سویه های مقاوم به کلرامفنیکل گونه های *کلبسیلا نومونیا*، *سالمونلا تایفیموریوم* ، *اشرشیا کلای*، *استافیلوکوکوس اورئوس* و *پروتئوس ولگاریس* مؤثر بوده است (Watts و همکاران، ۱۹۹۹). فلورفنیکل بر خلاف کلرامفنیکل موجب سرکوب مغز استخوان و آنمی آپلاستیک غیر قابل برگشت در انسان نمی شود (Plumb.D، ۲۰۰٤). به دلیل این ویژگی، مصرف کلرامفنیکل در حیواناتی که به مصرف انسان می رسند ممنوع شده است (Yunis، ۱۹۹۸).

با توجه به این که مستندات کافی در مورد اثرات ناهنجاری زایی فلورفنیکل روی سیستم اسکلتی جنین موش صحرایی در دسترس نیست ، لذا در این مطالعه نقش این دارو در ناهنجاری های اسکلتی در جنین موش صحرایی ارزیابی شد که احتمالاً الگوی آزمایشگاهی در اس‌تفاده از فلورفنیکل در زمان بارداری ارائه شود تا انجام مطالعات تکمیلی برای مصرف کلینیکی فلورفنیکل در حیوانات آبستن میسر شود.

مینا بارانی زاده

شهریور ۹۳

فصل دوم

مروری بر منابع

فصل دوم: مروری بر منابع

الف- هیستوژنز[1] غضروف و استخوان

تراکم یا تجمع سلول‌های مزانشیمی، گام اول در تشکیل عناصر اسکلت، یعنی غضروف و استخوان، در بدن مهره‌داران می‌باشد. این تجمع یا در اثر افزایش فعالیت میتوزی روی می‌دهد و یا در اثر جمع شدن سلول‌ها در قسمت مرکزی شکل می گیرد. ویژگی‌های سلولی گوناگونی در تجمع مزانشیم اولیه دخالت دارند، که عبارت‌اند از: تعداد سلول‌های بنیادی، زمان آغاز تشکیل اجتماع مزانشیم، حجم فعال میتوز در سلول ها، سرعت تقسیم سلول و سرعت مرگ سلول ها (خاکساری مهابادی، ۱۳۸۸). اصطلاح تجمع سلولی در زیست‌شناسی تکوینی[2] اشاره جمع شدن سلول های شبیه به هم در یک محل دارد. همچنین این واژه اشاره به روندی که طی آن این اجتماع شکل می‌گیرد، نیز می‌نماید.

اصطلاح اجتماع سلولی، نباید با بلاستما [3] و یا قالب اولیه [4] اشتباه شود. بلاستما، مجموعه‌ای از سلول-های تمایز نیافته است که در انتهای قطع‌شده اندام‌ها تشکیل می شود و از آنجا ترمیم انجام می گیرد. علاوه بر این در بلاستما، سلول‌ها در یک مرکز جمع نمی شوند و لزوماً همه‌ی آن‌ها هم‌عرض نیستند. قالب اولیه درواقع

1- Histogenesis
2- Developmental biology
3- Blastema
4- Analagen

پیش ساز یک اندام است که ممکن است خود از چندین اجتماع سلولی تشکیل شده باشد . شاید بیشترین مطالعات در رابطه با اجتماعات سلولی ، در سطح میکروسکوپ نوری و الکترونی و نیز هیستوشیمی مربوط به تجمعات پیش غضروفی [۵] در جوانه در حال رشد اندام های حرکتی در پستانداران و پرندگان باشد (خاکساری مهابادی، ۱۳۸۸).

الف-۱- روند تشکیل غضروف

غضروف از مزانشیم مشتق می‌شود. نخستین تغییری که مشاهده می شود، گرد هم آمدن سلول های مزانشیمی می‌باشد که باعث کشیدگی استطاله های آن‌ها، تکثیر سریع و تشکیل اجتماعات مزانشیمی می شود. سلول‌هایی که به این شیوه از سلول های مزانشیمی تمایز می‌یابند و به کندروبلاست [۶] تبدیل می‌شوند، حاوی سیتوپلاسم بازوفیل غنی از ریبوزوم می باشند. سپس ساخت و رسوب ماتریکس غضروفی موجب جدا شدن کندروبلاست‌ها از یکدیگر می شود. تمایز غضروف از مرکز به سمت خارج صورت می گیرد، لذا سلول های مرکزی‌تر که درون ماتریکس مدفون می‌گردند، خصوصیات کندروسیت [۷] را دارند، درحالی‌که سلول‌های محیطی کندروبلاست هستند. مزانشیم سطحی به کندروبلاست ها و فیبروبلاست‌های پری کندریوم تبدیل می‌شود. آنچه که در جوانه اندام در حال تکامل اتفاق می‌افتد، این است که، سلول‌ها در ناحیه مورد نظر جمع می‌شوند تا روند میتوز و تمایز رخ دهد (خاکساری مهابادی، ۱۳۸۸).

همزمان با تشکیل این اجتماعات سلولی ، اتصالات روزنه دار بین سلول‌ها نیز تشکیل می‌شود و اجازه برقراری ارتباط به سلول‌ها می‌دهد و انتقال موکول‌های کوچک تسریع می‌شود. تغییر در نوع گلیکوزآمینوگلیکان

[5]- Prechondrogen
[6] - Chondroblast
[7] - Chondrocyte

و گلیکوپروتئین‌های ترشحی از سلول های مزانشیمی پیش ساز غضروفی همراه با شکل گیری این اجتماعات آغاز می‌شود. گلیکوزآمینوگلیکان‌های اطراف سلول به همراه اسید هیالورونیک موجود در آن کاهش می‌یابد و از سوی دیگر میزان کندرویتین سولفات افزایش پیدا می‌کند. با آغاز شکل گیری تجمع سلولی، قدرت اتصال اسید هیالورونیک بالا می‌رود و این گام مهمی در ارتباط بین سلول‌ها و ماتریکس خارج سلولی طی سنتز و ترشح آن می‌باشد. پروتئین‌های متصل شونده به اسید هیالورونیک نیز در تجمع سلولی آن ظاهر می شوند. نتیجه حاصل آن است که اسید هیالورونیک، ایجاد تجمع سلولی را در جوانه اندام‌ها مهار می‌کند، لذا برداشت آن از ماتریکس باعث تسریع در تمایز غضروف می‌گردد (خاکساری مهابادی، ۱۳۸۸).

الف-۲- روند تشکیل استخوان از طریق داخل غشایی و داخل غضروفی

رشد تکاملی اسکلت در مهره داران با مهاجرت سلول ها از ناحیه ستیغ عصبی سری، سومیت ها و مزودرم صفحات جانبی ، به محل تشکیل آینده استخوان ها آغاز می‌شود (در موش بین روزهای ۱۰/۵ تا ۱۲/۵ جنینی). در این محل مزانشیم متراکم می‌شود و شکل اولیه قسمتی از اسکلت آینده را به وجود می‌آورد.

انواع استخوان های بدن، بدون در نظر گرفتن محل آن ها، از دو روند تشکیل می شوند. در روند استخوانی شدن داخل غشایی[8]، کلسیفیه مستقیم ماتریکس ترشح شده از استئوبلاست ها، انجام می گیرد، اما در استخوانی شدن داخل غضروفی[9]، رسوب ماتریکس استخوانی روی ماتریکس غضروفی از پیش موجود انجام می‌گیرد.

[8]- Intramembranous ossification
[9] - Endochondral ossification

استخوانی شدن، مجموعه پیچیده ای از مراحل است که طی آن بافت استخوانی به وجود می آید. این بافت استخوانی ابتدا به صرورت بافت استخوان اولیه یا در هم بافته تشکیل می شود و سپس با بافت استخوانی ثانویه یا تیغه‌ای جایگزین می‌شود. این حالت هم در استخوان اسفنجی و هم در استخوان متراکم و در هر دو مسیر استخوانی شدن داخل غشایی و داخل غضروفی رخ می دهد. در مقابل واژه استخوانی شدن، معدنی شدن یا مینرالیزه شدن به معنی رسوب مواد معدنی روی ماتریکس آلی استخوان می‌باشد (خاکساری مهابادی، ۱۳۸۸).

الف-۳- استخوانی شدن داخل غشایی

در این مرحله استخوانی شدن در یک بافت همبند پر از عروق انجام می‌گیرد. در این روند که عمدتاً در استخوان‌های پهن مانند جمجمه انجام می‌گیرد، سلول‌های اجدادی استخوان درون بافت مزانشیم، مستقیماً به استئوبلاست[۱۰] تبدیل می‌شوند و سپس این سلول ها ترشح و سنتز استئوئید[۱۱] را آغاز می‌نمایند. کلاژن نخستین جزئی از استئوئید است که ساخته می شود و بقیه اجزای ماتریکس آلی، یعنی ماده زمینه ای، بعداً تشکیل می‌گردند. سپس استئوبلاست ها درون استئوئید ساخته شده مدفون شده و درون لاکونا قرار می گیرند و به استئوسیت[۱۲] تبدیل می‌گردند.

این قطعات کوچک و جدا از یکدیگر استخوان های در حال رشد، درون بافت همبند، به نام مراکز استخوانی شدن[۱۳]، شناخته شده که نهایتاً در جهت های گوناگون گسترده می شوند تا تیغه های استخوانی را تشکیل دهند. استخوانی که به این شکل ایجاد می‌گردد، استخوان اسفنجی یا ترابکولار نامیده می‌شود. همزمان با سنتز و ترشح ماتریکس آلی توسط استئوبلاست ها، غشاء پلاسمایی آن‌ها جوانه می‌زند و در مجاورت استئوئد

[10]- Osteoblast
[11] - Osteoid
[12] - Osteocyte
[13] - Ossification center

قرار می گیرد. این جوانه ها وزیکول های ماتریکس نام دارند . درون این وزیکول ها لیپید و یون های کلسیم انباشته شده و فعالیت آلکالین فسفاتازی وجود دارد که این مجموعه جهت انجام روند معدنی شدن لازم می - باشند. در این روند طول و عرض ترابکول‌های استخوانی به تدریج با ساخت تیغه‌های استخوانی جدید افزایش می‌یابد و نهایتاً بافت اسفنج اولیه[14] به وجود می‌آید بافت اسفنج اولیه، حاوی ماتریکس کلسیفیه شده غضروفی، استخوان اولیه و کمی استخوان ثانویه می باشد که به تدریج تحت فعالیت استئوکلاست [15]ها دو بخش اول برداشته شده و بافت اسفنج ثانویه[16] که تماماً از استخوان ثانویه یا تیغه‌ای تشکیل شده، به وجود می‌آید. اگر قرار باشد بافت اسفنج اولیه به استخوان متراکم تبدیل شود، بافت مزانشیمی بین ترابکول ها، سیستم‌های متحدالمرکز هاورس را می‌سازند و تمام فضا را به جز در ناحیه مرکزی سیستم هاورس پر می‌کنند و چنانچه قرار باشد بافت اسفنج اولیه به استخوان اسفنجی تبدیل شود، بافت مزانشیمی بین ترابکول ها به بافت خون ساز مغز استخوان تمایز می یابد. به کمک استخوانی شدن داخل غشایی حتی بخش هایی از استخوان هایی که به روش داخل غضروفی ساخته می‌شوند، شکل می‌گیرند که این بخش‌ها شامل قسمت‌هایی است که در شکل نهایی استخوان وجود دارد ولی در قالب غضروفی ابتدایی قرار نمی‌گیرد (خاکساری مهابادی، ۱۳۸۸).

الف-٤- استخوانی شدن داخل غضروفی

استخوان‌های اندام حرکتی، ستون مهره، لگن و قاعده جمجمه ابتدا به شکل یک قالب غضروف شفاف تشکیل می‌شوند و سپس در جنین در حال رشد با استخوان جایگزین می شوند. اپی فیز استخوان‌های بلند، قطر

[14] - Primary spongiosa
[15]- Osteoclast
[16] - Secondary spongiosa