

مطالعه آرایش فضایی کانالهای غضروفی در انتهای غضروفی تیبیا جنین جوجه

محمدرضا باغبان اسلامی نژاد* Ph.D.، مجتبی رضازاده ولوجردی? Ph.D.،
پوپک افتخاری** Ph.D.

چکیده

هدف: مدل سازی سه بعدی کانالهای غضروفی در اپی فیز غضروفی- فوقانی تیبیا در جنین جوجه به منظور مطالعه آرایش فضایی آنها.

روش بررسی: تخم مرغهای نطفه دار از نژاد Hybro تهیه شد و در شرایط 38 ± 0.5 درجه سانتی گراد و رطوبت ۵۰٪ انکوبه شد. پوسته آهکی در روزهای ۱۰، ۱۱، ۱۲، ۱۴ و ۱۶ انکوباسیون باز شد و زانوی راست جنین جدا شد و پس از ثبوت، کلسیم زدایی، آب گیری و شفاف سازی در پارافین، قالب گرفته شد. برشهای ۵ میکرومتری تهیه شد و با هماتوکسیلین - ائوزین رنگ شد. به منظور مدل سازی سه بعدی، پروفیل کانالها با استفاده از لوله رسم (Lucida Camera) ترسیم شد و با بهره گیری از دستگاه دیجیتالیزر، اطلاعات مربوط به هر برش به کامپیوتر منتقل شد. با استفاده از نرم افزار اتوکد مدل سه بعدی از انتهای فوقانی تیبیا و کانالهای غضروفی داخل آنها ساخته و از زوایای مختلف مشاهده گردید و طرح شماتیک آنها ترسیم شد.

یافته ها: اولین کانال غضروفی در روز ۱۰ و در ناحیه کندیدل ظاهر شد. چند ساعت بعد اولین کانال ناحیه توبرکل تشکیل شد. در مجموع، کانالهای غضروفی از سه سطح قدامی توبرکل، سطح فوقانی توبرکل و سطح خلفی کندیدل تیبیا نفوذ کردند. تقریباً تمام کانالهای وارد شده به توده غضروفی، به سمت داخل و یا خارج اپی فیز امتداد یافتند. تمام کانالها با پری کندریوم در ارتباط بودند و شاخه شاخه شدن آنها از الگوی خاصی پیروی نمی کرد. همچنین تصاویر مطالعه حاضر نشان داد که کانالهای توبرکلی با کانالهای کندیدلی پیوندی برقرار نمی کنند.

نتیجه گیری: کانالهای غضروفی در انتهای فوقانی تیبیا آرایش نسبتاً پیچیده ای دارند. از سه سطح وارد می شوند و کانالهای ناحیه توبرکل هیچ ارتباطی با کانال های کندیدل برقرار نمی کنند.

واژه های کلیدی: کانال های غضروفی، جنین جوجه، آرایش فضایی

مقدمه

اطراف آنها که در غضروف شفاف برخی از مهره داران یافت می شود. پژوهشگران معتقدند که عملکرد این ساختارها، کمک به

کانالهای غضروفی عبارتند از مجموعه عروق خونی و بافت همبند

دریافت مقاله: ۸۴/۱۲/۱۶، پذیرش مقاله: ۸۵/۷/۲۶

? استاد گروه جنین شناسی، پژوهشکده رویان، تهران - ایران

* گروه سلولهای بنیادی، پژوهشکده رویان

** گروه جنین شناسی، پژوهشکده رویان

تغذیه بافت غضروف بوده (۱۷-۱)، در فرآیند استخوان‌زایی داخل غضروفی نیز ایفای نقش می‌کنند (۱۶-۸).

ساختار و مورفولوژی کانالهای غضروفی، به صورت گسترده‌ای مورد مطالعه قرار گرفته و تا به حال چندین فرضیه در مورد نحوه تشکیل آنها ارائه شده است که عبارتند از تهاجم فعال، ورود غیرفعال و نظریه آپوپتوزیس (۲۱-۱۷). بر اساس فرضیه تهاجم فعال، در طی دوران تکامل جنینی، سلولهایی با ویژگی تهاجمی، ماتریکس غضروفی را مورد حمله قرار داده، با تخریب آن راه را برای نفوذ عروق و تشکیل کانال باز می‌کنند. تحقیقات پیشین طیف وسیعی از سلولهای تهاجمی را معرفی کرده است که می‌توان به سلولهای مزانشیمی دور عروقی (۲۲، ۲۳)، سلولهای آندوتلیال (۲۴، ۲۵)، هیستوسیت (۲۶)، سلولهای فیبروبلاستیک مزانشیمی (۲۷، ۲۸) و ماکروفاژ (۱۴، ۱۵) اشاره کرد. نظریه ورود غیرفعال معتقد است که در طی تشکیل کانال غضروفی هیچ‌گونه تخریب در ماتریکس غضروف اتفاق نمی‌افتد و عروق خونی پری‌کندریوم صرفاً با رشد appositional بافت غضروف به عمق توده غضروفی کشیده می‌شود (۲۹، ۶). آخرین نظریه که جدیدترین نظریه هم محسوب می‌شود، فرضیه آپوپتوزیس است. براساس این نظریه که توسط Delgado-Baeza و همکاران ارائه شده است، تشکیل کانال غضروفی به دنبال تخریب ماتریکس اتفاق می‌افتد. تخریب ماتریکس با مرگ برنامه‌ریزی شده سلولهای غضروفی همراه است. بدین ترتیب که کندروسیت‌ها دچار آپوپتوزیس شده، به طور همزمان ماتریکس اطراف آنها توسط سلولهای فاگوسیت کننده برداشته می‌شود و در نتیجه مسیر برای رشد عروق خونی و تشکیل کانال غضروفی باز می‌گردد (۲۰، ۲۱).

موضوع جالب توجه دیگر در ارتباط با کانالهای غضروفی، آرایش فضایی آنها در توده غضروفی است که در چندین مطالعه مورد توجه قرار گرفته است. در مطالعات پیشین، آرایش فضایی کانالها در سین‌کندروزیس اسفنوآکسیپیتال، مدل غضروفی استخوانهای میج دست، میج پا، استخوان فمور و تیبیای انسان مورد مطالعه قرار گرفته است (۲۹، ۳۰). در این مطالعات برای پی‌بردن به آرایش فضایی کانالها از برشهای معمولی دو بعدی سریال استفاده شد. همچنین Wilsman و همکاران در سال ۱۹۷۰ با متد

شفاف‌سازی به مطالعه آرایش کانالها در مدل غضروفی استخوان بازوی سگ پرداختند (۴). با توجه به این که کانالهای غضروفی، سیستم‌های مرفولوژیکی پیچیده‌ای را تشکیل می‌دهند، مطالعه آرایش و توزیع فضایی آنها با روشهای دو بعدی دقت لازم و کافی را نخواهد داشت و به نظر می‌رسد روش بازسازی سه بعدی برای این قبیل مطالعات مناسب باشد. در حال حاضر روشهای مدل سازی سه بعدی با پیدایش نرم‌افزارهای طراحی، قابلیت‌های فراوانی کسب کرده است. Blumer و همکاران در سال ۲۰۰۵ برای بازسازی بخش کوچکی از انتهای دیستال فمور جوجه از روش بازسازی کامپیوتری استفاده کردند. هدف این محققین بررسی نقش کانالهای غضروفی در فرآیند استخوان‌سازی بود (۱۶). در مطالعه حاضر، به منظور مطالعه آرایش فضایی کانالهای غضروفی، انتهای فوقانی تیبیای راست جنین جوجه به طور کامل مدل‌سازی شده است که این امر با استفاده از کامپیوتر و نرم‌افزار اتوکد انجام گرفته است. هدف مطالعه حاضر پاسخ دادن به سؤالات زیر بود:

- ۱) کانالهای غضروفی از چه سطوحی وارد توده غضروفی می‌شوند؟
- ۲) چه مسیر و توزیعی در داخل غضروف دارند؟
- ۳) آیا کانالها پیوند برقرار می‌کنند؟
- ۴) اولین کانال در کدام ناحیه و در چه زمانی ظاهر می‌شود؟

روش بررسی

نمونه‌ها . تخم‌مرغهای نطفه‌دار از نژاد Hybro تهیه شد و داخل انکوباتور در درجه حرارت 38 ± 0.5 و رطوبت ۵۰٪ قرار داده شد. پوسته‌های تخم‌مرغها در روزهای ۱۰، ۱۱، ۱۲، ۱۴ و ۱۶ مطابق با مراحل ۳۶، ۳۷، ۴۰، ۳۸ و ۴۲ همبرگر- هیلتون (۱۹۵۱) باز شد و مرحله جنین بر اساس خصوصیات ذکر شده تعیین شد (۳۱).

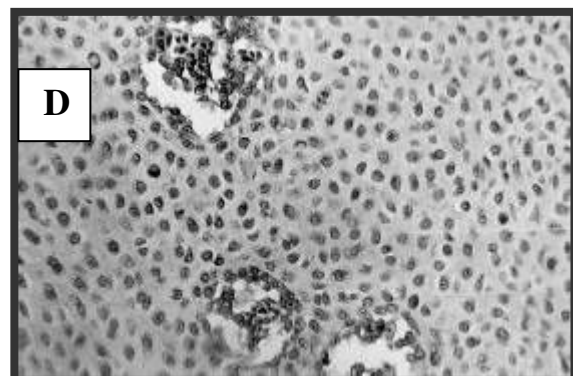
برش‌گیری . دو نمونه از هر مرحله برای مطالعه انتخاب شد. زانوی راست جنین‌ها جدا گردید و به مدت ۲۴ ساعت در محلول بوئن فیکس شد. آنگاه با EDTA به مدت ۳ روز کلسیم‌زدایی شد و پس از آب‌گیری و شفاف‌سازی در پارافین قالب گرفته شد. برشهای سریال ساجیتال از انتهای فوقانی تیبیای راست به ضخامت ۵ میکرومتر تهیه و به روش هماتوکسلین و اتوزین رنگ‌آمیزی شد.

بعدی ساخته شده از انتهای فوقانی تیبای راست، در محیط اتوکد از زوایای مختلف و متعدد مورد مشاهده قرار گرفت و بر اساس آنها تصاویر شماتیک رسم گردید.

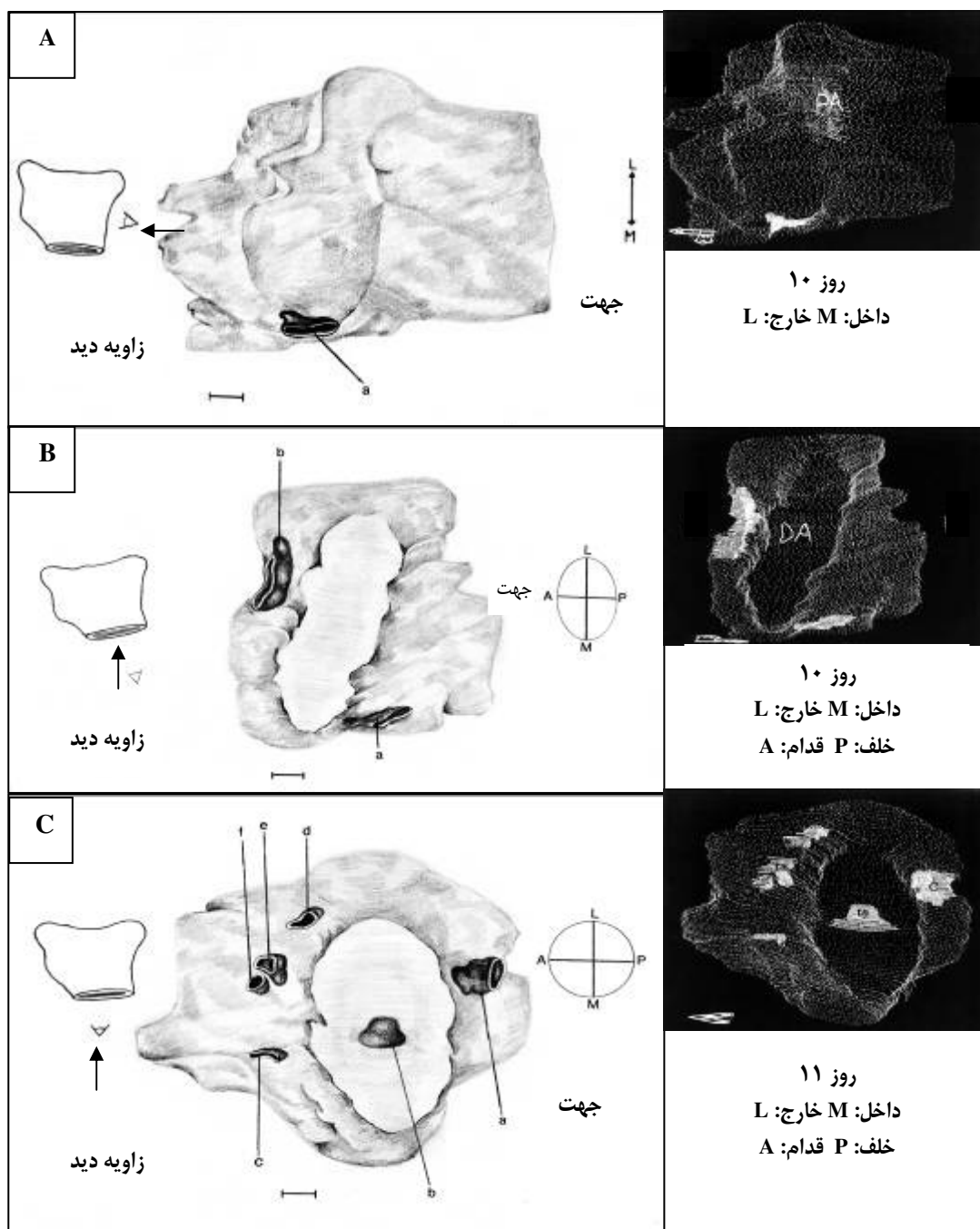
یافته‌ها

روز ۹ (مرحله ۳۵ همبرگر - همیلتون). در این مرحله، هنوز کانالهای غضروفی تشکیل نشده بود و انتهای فوقانی تیبا از یک توده غضروفی پرسلول ساخته شده بود (شکل ۱- A). دو ناحیه مشخص در اپی‌فیز فوقانی قابل تشخیص بود: (۱) توبرکل که بخش قدامی اپی‌فیز را تشکیل می‌داد و دو سطح قدامی و فوقانی داشت. (۲) کندیل‌های داخلی و خارجی که بخش خلفی اپی‌فیز را تشکیل می‌دادند و دو سطح فوقانی و خلفی داشتند. سطح فوقانی آنها هم با کندیل‌های فمور مفصل می‌شد.

مدل‌سازی. با استفاده از لوله ترسیم (Camera Lucida) که بر روی میکروسکوپ Zeiss نصب شد، پروفیل کانالهای غضروفی و پری‌کندریوم اطراف اپیفیز که در مقاطع به وضوح مشخص بود (شکل ۱- A, B, C) بر روی کاغذ رسم شد. اطلاعات مربوط به هر برش به ترتیب، توسط دستگاه دیجیتایزر A₄ به کامپیوتر منتقل شد و در محیط سه‌بعدی‌سازی نرم‌افزار اتوکد نسخه ۱۴ قرار گرفت. به منظور سه‌بعدی‌سازی، لایه‌هایی با ضخامت ۵ میکرومتر (ضخامت برشها) تعریف شد و برای محاسبه ارتفاع لایه اول از فرمول «درشت‌نمایی لوله‌رسم × درشت‌نمایی عدسی شیئی × درشت‌نمایی عدسی چشمی × ضخامت برش (۱×۱۰×۱۰×۵)» استفاده شد و ارتفاع لایه دوم دو برابر لایه اول و لایه سوم سه برابر لایه اول و الی آخر در نظر گرفته شد. از پری‌کندریوم به عنوان نقطه رجوع (Reference Point) استفاده شد. مدل‌های سه



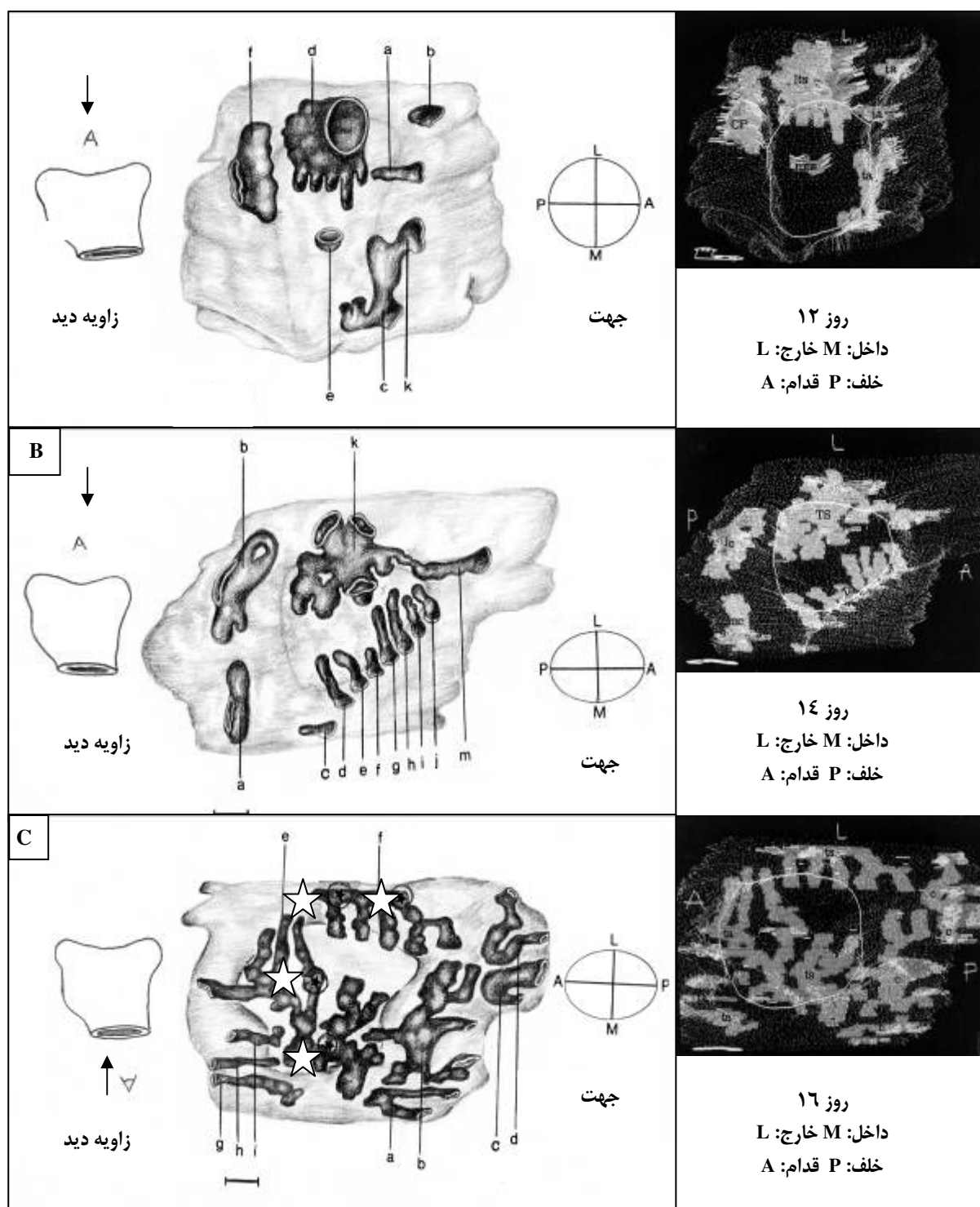
شکل ۱: فتومیکروگراف اپی‌فیز غضروفی - فوقانی تیبای جنین جوجه
روز ۹: مفصل زانو، اپی‌فیز فوقانی تیبا (ct) که به صورت ساجیتال برش خورده شامل دو بخش کندیل (C) و توبرکل (T) است. (B) مقطع کانالهای غضروفی در ناحیه کندیل و (C) توبرکل به راحتی قابل تشخیص است. (D) کانالهای غضروفی از مزانشیم عروقی تشکیل یافته است.



شکل ۲. تصاویر کامپیوتری (راست) و شماتیک (چپ) اپی فیز فوقانی تیبیای جنین جوجه (A). روز ۱۰: در این مرحله یک کانال در ناحیه کنديل نفوذ کرده است (a). روز ۱۰: این نمونه از لحاظ تکاملی چندین ساعت پیشرفته تر از نمونه نشان داده شده در بخش (A) است. کانال دیگری (b) در ناحیه توبرکل ظاهر شده است. (C) روز ۱۱: تعداد کانالها به ۶ رسیده است. یک کانال (a) در کنديل قرار گرفته که به نظر می رسد نسبت به کانال بخش (B) اندکی به سمت خارج منحرف شده است. ۵ کانال دیگر در ناحیه توبرکل واقع شده است. یکی (b) از سطح فوقانی آن و ۴ کانال دیگر (c,d,e,f) از سطح قدامی نفوذ کرده اند.

داخلی ترین بخش سطح خلفی کنديل داخلی شروع شد و به سمت قدام امتداد یافت (شکل A-۲). در نمونه دیگر همین مرحله که

روز ۱۰ (مرحله ۳۶ همبرگر - همیلتون). در این روز یک کانال غضروفی در بخش کنديلی ظاهر شد. این کانال از



شکل ۳: تصاویر کامپیوتری (چپ) و شماتیک (راست) اپی‌فیز فوقانی تیپ‌بای جنین جوجه. (A) روز ۱۲: ۶ کانال از سه سطح وارد شده است. سطح قدامی توبرکل (a-c, k)، سطح فوقانی توبرکل (e,d) و سطح خلفی کندیل (f). (B) روز ۱۴: کانالها از همان سطوح ذکر شده وارد شده‌اند. سطح خلفی کندیل (a,b) و سطح قدامی توبرکل (k) و سطح قدامی توبرکل (c-z,m). تعداد کانالها در این مرحله افزایش یافته است و بین کانال سطح قدامی توبرکل (کانال m) و شاخه‌ای از کانال سطح فوقانی (کانال k) پیوند برقرار شده است. (C) روز ۱۶: در این مرحله تعداد کانالها افزایش یافته است. کانالهای سطح فوقانی توبرکل یا کانالهای سطح قدامی آن پیوند شده است. محل ورود کانالهای سطح فوقانی توبرکل با ستاره سفید مشخص شده است. کانالهای توبرکل با حروف g,h,i,e,f و کندیل با حروف a,b,c,d نشان داده شده است.

شده بود. یکی از این شاخه‌ها به سمت داخل و دیگری به سمت خارج امتداد یافته بود. کانال داخلی کنذیل، بلافاصله پس از ورود به سمت خارج منحرف شده بود. در ناحیه توبرکل، یک کانال پیچیده از سطح فوقانی وارد شده بود. این کانال چند نقطه ورود داشت و در داخل توده غضروفی به ۴ شاخه تقسیم شده بود. شاخه داخلی جدا شده از این کانال با کانال وارد شده از سطح قدامی توبرکل پیوند شده بود. از سطح قدامی توبرکل ۹ کانال وارد شده بود.

روز ۱۶ (مرحله ۴۲ همبرگر - همیلتون) . در این مرحله به نظر می‌رسید که توزیع کانالهای غضروفی در توده غضروفی اپی‌فیز، نسبتاً یکنواخت شده بود (شکل ۳-۳). همچنین طول کانالها، میزان انشعاب و پیوند بین آنها در مقایسه با کانالهای مرحله پیش افزایش یافته بود.

از سطح خلفی کنذیل‌ها، هشت کانال نفوذ کرده بود. این کانالها دو به دو پیوند شده و در مجموع چهارتنه ساخته شده بود. یکی این تنه‌ها به چندین شاخه تقسیم شده بود. هیچ‌کدام از کانالهای وارد شده از سطح خلفی کنذیل با کانالهای ناحیه توبرکل پیوند نشده بود. از سطح فوقانی کنذیل دو کانال از سمت داخل و دو کانال از سمت خارج وارد شده بود. کانالهای داخلی این بخش پیچیده‌تر از کانالهای خارجی سطح فوقانی توبرکل بود. در ناحیه توبرکل هم ۴ کانال از سطح قدامی وارد شده بود. کانال خارجی این بخش به چندین شاخه تقسیم شده بود که یکی از آنها با شاخه‌ای از کانال داخلی سطح فوقانی توبرکل پیوند شده بود.

بحث

غضروف انتهایی فوقانی تیبیبای جنین جوجه به عنوان یک مدل، به منظور مطالعه کانالهای غضروفی به دفعات مورد استفاده محققین قرار گرفته است. تداوم حضور کانالها در یک فاصله زمانی نسبتاً طولانی و همچنین سهولت کار با جنین جوجه از جمله عواملی هستند که آن را به عنوان مدل مناسب مطرح کرده‌اند. کانالهای غضروفی در کندرواپی‌فیز تیبیبای جنین جوجه از روز دهم تا هفته چهارم بعد از Hatching قابل دسترسی هستند (۱،۲) در حالی که در موش سوری و رت تنها ۳ یا ۴ روز کانالها حضور دارند (۱۹). تا

چند ساعتی از لحاظ تکاملی جلوتر بود، دو کانال مشاهده شد. یکی در بخش کنذیل و دیگری در توبرکل قرار گرفته بود (شکل ۲-B). کانال کنذیل از بخش داخلی سطح خلفی کنذیل داخلی منشاء گرفته و کانال توبرکل از بخش میانی سطح قدامی شروع شده بود. کانال واقع در توبرکل ارتباط وسیعی با پری‌کندریوم داشت. این کانال پس از نفوذ به داخل غضروف به سمت خارج منحرف شده بود.

روز ۱۱ (مرحله ۳۷ همبرگر - همیلتون) . در این مرحله، تعداد کانالهای غضروفی در مقایسه با مرحله پیشین افزایش یافته بود. در مجموع شش کانال وجود داشت (شکل ۲-C) که یکی در ناحیه کنذیل قرار داشت و بقیه در توبرکل جای گرفته بودند. کانال کنذیل از سطح خلفی کنذیل‌ها، نزدیک پیوستگاه دو کنذیل داخلی شروع شده بود و به نظر می‌رسید در این مرحله به سمت خارج کشیده شده است. در ناحیه توبرکل، یک کانال از بخش میانی سطح فوقانی و ۴ کانال از سطح قدامی آن منشاء گرفته بود.

روز ۱۲ (مرحله ۳۸ همبرگر - همیلتون) . در مجموع کانالهای غضروفی همانند مرحله پیش، از سه سطح وارد شده بود (شکل ۳-A). در این روز، طول کانالها افزایش یافته بود و یک کانال جدید در بخش خارجی سطوح فوقانی توبرکل ظاهر شده بود. کانال کنذیلی ارتباط نسبتاً وسیعی با پری‌کندریوم داشت. این کانال، بلافاصله پس از ورود به توده غضروفی به دو شاخه داخلی و خارجی تقسیم شده بود. شاخه‌های فوق به صورت بن بست بودند. کانال جدید واقع در سطح فوقانی توبرکل به سمت خلف امتداد یافته و به پنج شاخه منشعب شده بود. این شاخه‌ها به صورت بن بست به سمت داخل امتداد یافته بود. از سطح قدامی توبرکل ۴ کانال وارد شده بود که داخلی‌ترین آنها به سه شاخه تقسیم شده بود. یکی از این شاخه‌ها با کانال مجاور پیوند شده بود.

روز ۱۴ (مرحله ۴۰ همبرگر - همیلتون) . در این مرحله تعداد کانالها، در مقایسه با مرحله قبل، تقریباً دو برابر شده بود (۱۲ کانال). محل ورود آنها به توده غضروفی اپی‌فیز همان سطوح ذکر شده در مراحل پیشین بود (شکل ۳-B). در بخش کنذیل، در این مرحله ۲ کانال قابل مشاهده بود. کانال خارجی به دو شاخه تقسیم

پدیده قابل تصور است:

۱. کانال واقع در داخلی‌ترین بخش سطح خلفی با گذشت زمان از بین رفته و کانال جدیدی در موقعیت خارجی‌تر تکامل یافته است.

۲. با گذشت زمان اپی‌فیز فوقانی به سمت داخل گسترش یافته و

در نتیجه کانال فوق به ظاهر به سمت خارج کشیده شده است.

در مجموع الگوی آرایش فضایی کانالها در هر مرحله مختص همان مرحله بود و با مرحله بعدی تفاوت داشت. با این وجود، بر این الگو اصولی حاکم بود که در تمام مراحل فوق صدق می‌کرد. این اصول عبارتند از:

۱. کانالهای غضروفی، بلافاصله پس از منشاء‌گیری از پری کندریوم، به سمت داخل و یا خارج منحرف شدند. این وضعیت در مورد انشعاب کانالها نیز صدق می‌کرد. تمام کانالها به صورت بن بست ختم شدند.

۲. کانالهای منطقه توبرکل با کانالهای ناحیه کندیل پیوند نشدند ولی کانالهای هر ناحیه با همدیگر پیوند شدند.

۳. سطوح مفصلی فاقد کانال بودند و کانالهای کندیل‌ها به موازات سطوح مفصلی امتداد داشتند.

Wilsman و همکارش در سال ۱۹۷۲، با استفاده از روش شفاف‌سازی، کانالهای غضروفی واقع در اپی‌فیز غضروفی نوزاد سگ را مطالعه کرد و دریافت که توزیع کانالها در توده غضروفی یکنواخت است. آنها نشان دادند که فاصله بین دو کانال مجاور حدود ۴/۱ میلی‌متر است و این میزان برای دو کانال مجاور همواره ثابت است. این محققین فاصله فوق را فاصله Diffusion خواندند. در مطالعه حاضر فاصله بین دو کانال مجاور اندازه‌گیری نشد. ولی مشاهده تصاویر کامپیوتری نشان داد که توزیع کانالها یکنواخت است (۴). این ویژگی، به خصوص در مرحله ۴۲ همبرگر - هیلتون کاملاً آشکار بود.

مطالعه حاضر جهت بررسی آرایش مورفولوژیک کانالهای غضروفی طراحی شده بود؛ با این وجود، با کمک تصاویر کامپیوتری می‌توان در مورد مکانیسم مورفونژنیز کانالها نیز استدلال کرد. بر اساس یک فرضیه قدیمی، کانالهای غضروفی به صورت غیرفعال و در اثر رشد Appositional غضروف اپی‌فیز، تشکیل می‌شوند (۶). در حالی که Ganey و همکاران نشان

به حال زمان دقیق تشکیل کانالها و آرایش فضایی آنها در اپی‌فیز فوقانی تیبیای جنین جوجه گزارش نشده است. در مطالعه حاضر الگوی تکوین و آرایش فضایی کانالها با استفاده از روش بازسازی سه بعدی کامپیوتری مورد بررسی قرار گرفت.

سه بعدی سازی کامپیوتری روش مناسبی برای مطالعه مورفولوژی ساختارهای پیچیده نظیر کانالهای غضروفی است، زیرا مدل ساخته شده در محیط گرافیکی کامپیوتر، قابل چرخش است و در نتیجه محقق می‌تواند از زوایای مختلف محل مورد مطالعه را بررسی کند. همین تصاویر، زمانی که بر روی کاغذ دوبعدی منتقل می‌شوند، به مقدار زیادی کیفیت خود را از دست می‌دهند زیرا رنگهای مورد استفاده تغییر می‌کنند و از طرفی اجزای مختلف تصاویر سه بعدی روی هم می‌افتند. برای حل این مشکل، مدل سه بعدی ساخته شده از انتهای فوقانی تیبیا، به دقت از زوایای مختلف مشاهده شد و تصاویر شماتیک آنها ترسیم گردید.

مطالعه Reidenbach و همکاران در سال ۱۹۹۴ نشان داد که پری‌کندریوم در محلی که کانالهای غضروفی از آن منشاء می‌گیرند، ساختار سستی دارد و رشته‌های کلاژن آن نامنظم است در حالی که در سایر مناطق نظیر محل اتصال تاندون و عضله و ساختمان پری‌کندریوم از استحکام بیشتری برخوردار است و رشته‌های کلاژن در آن به صورت موازی آرایش یافته است (۳۲). تصاویر سه بعدی مطالعه حاضر، موافق یافته‌های Reidenbach بوده، حاکی از این است که کانالها از سه سطح قدامی توبرکل، فوقانی توبرکل و خلفی کندیل‌ها نفوذ می‌کنند. بر اساس این تصاویر از سطوح داخلی و خارجی اپی‌فیز فوقانی تیبیا کانالی نفوذ نکرده است.

در تمام نمونه‌ها، کانالها از سه سطح یاد شده نفوذ کردند و این سطوح در همه مراحل مورد مطالعه (یعنی مراحل ۳۶، ۳۷، ۳۸، ۴۰ و ۴۲) ثابت بود ولی تعداد کانالهای غضروفی و همچنین محل ارتباط آنها با پری‌کندریوم در هر مرحله، مختص همان مرحله بود. برای مثال، در مرحله ۳۶ همبرگر - هیلتون یک کانال از داخلی‌ترین بخش سطح خلفی اپی‌فیز نفوذ کرده بود و در مرحله بعدی (یعنی مرحله ۳۷) این کانال در همان موقعیت نبود و به نظر می‌رسید به سمت خارج جابه‌جا شده است. دو توجیه برای این

6. Haines RW. Cartilage canals. *J Anat Lond* 1933; 68: 45-64.
7. Domenech-Rtto G, Fernandez-Villacanas Marin M, Ballestr-Moreno A, Domenech-Asensi P. Development and segments of cartilage canal in the chick embryo: a light microscope study. *Eur J Anat* 1999; 3: 121-126.
8. Burkus KJ, Ganey TM, Ogden JA. Development of cartilage canal and the secondary center of ossification in the distal chondroepiphysis of the prenatal human femur. *Yale J Biol Med* 1993; 66: 193-202.
9. Ganey TM, Ogden JA, Sasse J, Neame PJ, Hileblink DR. Basement membrane composition of cartilage canals during development and ossification of the epiphysis. *Anat Rec* 1995; 241: 425-437.
10. Claassen H, Kirsch T, Simons G. Cartilage canal in human thyroid cartilage characterized by immunolocalization of collagen type I, II, pro III and X. *Anat Embryo* 1996; 194: 147-153.
11. Roach HI, Baker JE, Clarke NMP. Initiation of bony epiphysis in long bones: Chronology of interactions between the vascular system and chondrocytes. *J Bone Min Res* 1998; 13: 950-961.
12. Fritsch H, Eggers R. Ossification of the calcaneus in the normal fetal foot and in clubfoot. *Pediatr* 1999; 19: 22-26.
13. Fritsch H, Brenner E, Debbage P. Ossification in the human calcaneus, a model for spatial bone development and ossification. *J Anat* 2001; 199: 609-616.
14. Blumr MJF, Fritsch H, Pfaller K, Brenner E. Cartilage canals in the chicken embryo:

داده‌اند که رشد کانالها به صورت فعال انجام می‌گیرد. این محققین به طور جداگانه حجم کانالهای غضروفی و غضروف هیالین را اندازه گرفتند و نتایج آنها نشان داد که از زمان تشکیل اولین کانال تا مرحله تشکیل مرکز استخوان‌سازی ثانویه، حجم غضروف هیالین حدود ۲۵ برابر بیشتر می‌شود، در حالی که حجم کانالهای غضروفی ۴۰۰ برابر می‌شود و چنین نتیجه گرفتند که رشد کانالها به صورت فعال انجام می‌گیرد (۳۳). نتایج مشابهی را Cole و همکارش گزارش کرده‌اند (۲۳). بر اساس تصاویر کامپیوتری مطالعه حاضر، به نظر می‌رسد که رشد کانالها به صورت فعال است. با مشاهده تصاویر از مرحله ۳۶ تا ۴۲ به آسانی می‌توان دریافت که حجم کانالها بیش از حجم غضروف افزایش یافته است.

تشکر و قدردانی. تصاویر شماتیک مطالعه حاضر توسط آقایان حسین سوری و مجتبی روانی ترسیم شده است که بدین وسیله از زحمات این عزیزان سپاسگزاری می‌شود.

References

1. Lutifi AM. Mode of growth, fate and functions of cartilage canals. *J Anat Lond* 1970; 106: 135-145.
2. Lutifi AM. Study of cell multiplication in the cartilaginous upper end of the tibial of the domestic fowl by tritiated thymidine autoradiography. *Acta Anat* 1970; 76: 454-463.
3. Wilsman NJ, Van Sickle DC. The relationship of cartilage canal to the initial osteogenesis of secondary centers of ossification. *Anat Rec* 1970; 168: 381-392.
4. Wilsman NJ, Van Sickle DC. Cartilage canals, their morphology and distribution. *Anat Rec* 1972; 173: 70-94.
5. Hunt CD, Ollerich DA, Nielson FH. Morphology of the perforating cartilage canals in the proximal tibial growth plate of the chick. *Anat Rec* 1979; 194: 143-157.

- Ultrastructure and function. *Anat Embryo* 2004; 207: 4530-62.
- 15.** Blumer MJF, Longato S, Fritsch H. Cartilage canals in the chicken embryo are involved in the process of endochondral bone formation within the epiphyseal growth plate. *Anat Rec* 2004; 279: 692-700.
- 16.** Blumer MJF, Longato S, Richter E, Perez MT. The role of the cartilage canals in endochondral and perichondral bone formation: are there similarities between these two processes. *J Anat* 2005; 206: 359-372.
- 17.** Brookes M. The blood supply of bone. London. Butterworths 1971.
- 18.** Stockwell RA. The ultrastructure of cartilage canals and the surrounding cartilage in the sheep fetus. *A Anat* 1971; 109: 397-410.
- 19.** Delgado-Baeza E, Gimenez-Ribotta M, Miralles-Flores C, Nieto-Chaguaceda A, Santos-Alvares I. Relationship between the cartilage canal and the perichondrium in the proximal tibial epiphysis. *Acta Anat* 1991;141: 31-35.
- 20.** Delgado-Baeza E, Nieto-Chaguaceda A, Miralles-Flores C, Santos-Alvares I. Cartilage canal growth: Experimental approach in the rat tibia. *Acta Anat* 1992; 145: 143-148.
- 21.** Delgado-Baeza E, Gimenez-Ribotta M, Miralles-Flores C, Nieto-Chaguaceda A, Santos-Alvares I. Morphogenesis of cartilage canals: Experimental approach in rat tibia. *Acta Anat* 1991;142: 132-137.
- 22.** Cole AA, Wezeman FH. Perivascular cells in cartilage canals of the developing mouse epiphysis. *Am J Anat* 1985; 174: 119-129.
- 23.** Cole AA, Wezeman FH. Morphometric analysis of cartilage canals in the developing mouse epiphysis. *Acta Anat* 1987; 128: 93-97.
- 24.** Cameron DA. Erosion of the epiphysis of the rat tibia by capillaries. *J Bone JT Surg* 1961; 43: 590-594.
- 25.** Anderson CE, Parker J. Invasion and resorption in endochondral ossification: An EM Study. *J Bone JT Surg* 1966; 48: 899-914.
- 26.** Andersen H, Matthiessen ME. The histiocyte in human fetal tissues. Its morphology, cytochemistry, origin and fate. *Z Zellforsch* 1966; 72:193-211.
- 27.** Dayer J-M, Russell RGG, Krane SM. Collagenase production by rheumatoid synovial cells: Stimulation by a human lymphocyte factor. *Science* 1977; 195: 181.
- 28.** Sorrell JM, Weiss L. A light and electron microscopic study of the region of cartilage resorption in the embryonic chick femur. *Anat Rec* 1980; 498-513.
- 29.** Hurrell DJ. The vascularization of cartilage. *J Anat London* 1934; 69: 47-60.
- 30.** Moss-Salentijn L. Cartilage canals in the human sphenoccipital synchondrosis during fetal life. *Acta Anat* 1975; 92: 595-606.
- 31.** Hamburger V, Hamilton HL. A series of normal stages in the development of the chick embryo. *J Morph* 1951; 88: 49-92.
- 32.** Reidenbach MM, Schmidt HM. Cartilage canals in the fetal elbow joint in human. *Acta Anat* 1994; 149: 195-202.
- 33.** Ganey TM, Love SM, Ogden JA. Development of vascularization in the chondroepiphysis of the rabbit. *J Orthop Res* 1992; 10: 496-510.